Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Nachweis und Bedeutung von ANTI-RO bei organspezifischen und nicht organspezifischen Autoimmunerkrankungen

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
SIMONE VAYHINGER, geb. Bartel
aus Celje

1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543922_0063

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Nachweis und Bedeutung von ANTI-RO bei organspezifischen und nicht organspezifischen Autoimmunerkrankungen

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
SIMONE VAYHINGER, geb. Bartel
aus Celje

1986

Dekan:	Professor Dr. J. Dichgans
1. Berichterstatter:	Professor Dr. P. A. Berg
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. J. Saal
3. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. U. Sugg

---

gedruckt 1987 bei H.-J. Köhler , Reprografischer Betrieb , Tübingen

Meiner Mutter gewidmet

für ihre aufopfernde Hilfe

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	METHODEN UND PATIENTEN	8
I.	Methoden	8
1.	Herstellung des humanen Milz(spleen)-Extraktes (HSE)	8
2.	Versuch der Isolierung von Ro aus HSE durch Säulenchromatographie	8
2.1.	Säulenchromatographie mit Sepharose 6B	8
2.2.	Säulenchromatographie mit Sepharose G-100	9
2.3.	Säulenchromatographie mit Sepharose G-200	9
3.	Proteinbestimmung	9
4.	Behandlung des HSE mit verschiedenen Enzymen	9
4.1.	Behandlung mit DNAse I	9
4.2.	Behandlung mit RNAse A	10
4.3.	Trypsinbehandlung	10
5.	Wärmebehandlung	10
6.	Herstellung des Agarose-Geles für die Immundiffusion	10
7.	Indirekte Immunfluoreszenz(IFL)	11
8.	Nachweis von Doppelstrang-DNA (ds-DNA) Antikörpern	11
9.	Nachweis von AMA in der Immundiffusion	12
10.	Nachweis von Anti-M_2 AK im ELISA	12
11.	Bestimmung verschiedener Laborwerte	12
II.	Patienten	13
1.	Gesamtübersicht der untersuchten Patienten	13
2.	Herkunft der Seren	14
3.	Diagnostik bei Patienten mit organspezifischen Autoimmunerkrankungen	14

Seite

4. Diagnostik bei Patienten mit Kollagenerkrankungen 15

5. Diagnostik bei den autoimmunen Leberer-krankungen 15

6. Diagnostik der Kontrollgruppe 15

C. ERGEBNISSE 18

1. Nachweis des Anti-Ro Antikörpers in der Immundiffusion 18

2. Ergebnisse der säulenchromatographischen Auftrennung des humanen Milzextraktes(HSE) 19

2.1. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose 6B-CL 19

2.2. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose G-100 21

2.3. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose G-200 21

3. Ergebnisse der Enzymbehandlung 24

3.1. Behandlung mit DNAse I 24

3.2. Behandlung mit RNAse 24

3.3. Trypsinbehandlung 24

3.4. Zusammenfassung 24

4. Ergebnisse der Wärmebehandlung von Ro 25

5. Prävalenz von Anti-Ro bei Kollagenosen und anderen Erkrankungen 27

6. Häufigkeitsverteilung von Anti-Ro bei Kollagenosen 29

7. Verteilung von Anti-Ro AK isoliert und in Kombination mit anderen Kernantikörpern bei Kollagenerkrankungen 32

8. Häufigkeit der für den SLE typischen Leitbefunde bei Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen 36

9. Häufigkeit der für das Sjögren Syndrom typischen Leitbefunde bei Anti-Ro/La positiven, nur Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen 36

10. Prävalenz klinischer und laborchemischer Parameter bei Patienten, deren Seren nur Anti-Ro AK in der Immundiffusion aufwiesen 40

Seite

10.1. Verteilung und Bedeutung verschiedener Antikörper in der Immunfluoreszenz bei Anti-Ro positiven Seren 40

10.2. Prävalenz einiger Laborparameter bei Anti-Ro positiven Seren 42

10.3. Häufigkeit und Bedeutung klinischer Symptome bei Patienten mit Anti-Ro positiven Seren 44

11. Besprechung der Anti-Ro positiven Fälle, deren klinische Enddiagnose z.Zt. nicht eindeutig gestellt werden kann und das Spektrum ihrer derzeitigen Symptome 46

12. Darstellung von Krankheitsverläufen bei Patienten mit Anti-Ro Antikörpern 50

12.1. Patientin H.C. 50

12.2. Patientin A.H. 52

12.3. Patientin E.A. 56

12.4. Zusammenfassung 56

D. DISKUSSION 57

1. Verbesserung der serologischen Diagnostik 57

2. Hypothesen über die Struktur des Ro(SS-A) Antigens 58

3. Aspekte der Autoimmunität 58

4. Klinische Bedeutung von Anti-Ro 59

E. ZUSAMMENFASSUNG 62

F. LITERATURVERZEICHNIS 64

ABKÜRZUNGEN

AK	Antikörper
AMA	Antimitochondriale Antikörper
ANA	Antinukleäre Antikörper
CAH	Chronisch-aggressive-Hepatitis
DLE	Discoider Lupus erythematodes
DM	Dermatomyositis
ds-DNA	Doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure
ENA	Extrahierbares Nukleäres Antigen
HSE	Humaner Milzextrakt
ID	Immundiffusion
IFL	Immunfluoreszenz
MCTD	Mixed connective tissue disease (Mischkollagenose= Sharp-Syndrom)
PBC	Primär-biliäre Zirrhose
PM	Polymyositis
PSS	Progressive systemische Sklerodermie
RA	Rheumatoide Arthritis
RNA	Ribonukleinsäure
SCLE	Subakuter cutaner Lupus erythematodes
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
SS	Sjögren-Syndrom

A. EINLEITUNG

Die Gruppe der rheumatischen Erkrankungen stellt keine Einheit dar, weder im immunologischen, noch im klinischen Erscheinungsbild.

Prototyp und wohl bekanntester Vertreter dieser Gruppe ist der Lupus erythematodes (LE) mit seinen verschiedenen Manifestationsformen (29). Seit Kaposi 1872 unterscheidet der Kliniker den systemischen Lupus erythematodes (SLE) mit vielfältiger Organbeteiligung (20,21) vom discoiden Lupus erythematodes (DLE)(34), auf die Haut beschränkten, bei dem interessanterweise das Geschlechtsverhältnis männlich/weiblich mit 1:2 nicht so eindeutig das weibliche Geschlecht befällt wie beim SLE.

20-30% der Patienten mit einem SLE entwickeln während ihrer Erkrankung typische Hautbeteiligungen, aber nur 5% mit einem DLE gehen in eine systemische Form über.

Die Ätiologie des Lupus erythematodes ist immer noch unbekannt (72). Es gibt Anzeichen für eine genetische Prädisposition (2,19,60,70,71), für Einflüsse der Umwelt, wie Infektionen (33,52), aber auch hormonelle Faktoren scheinen eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen. Diese Tatsache ist gar nicht so verwunderlich, wenn man bedenkt, daß der LE weltweit in einer Häufigkeit von 1:2000 bis 1:8000 (27) vorkommt, wobei das Verhältnis Männer/Frauen mit 1:15 eine deutliche Dominanz des weiblichen Geschlechtes aufweist (47).

Weitere Kollagenosen sind das Sjögren Syndrom (SS), die progressive systemische Sklerodermie (PSS), die Mischkollagenose (Sharp-Syndrom), die Dermato-bzw. Polymyositis

(DM/PM) und die rheumatoide Arthritis (RA).

In ihrer klinischen Ausprägung haben viele der Erkrankungen ähnliche, einige aber unterschiedliche Manifestationsformen, und es gilt die Mosaiksteine auch mit Hilfe der Serologie in ein geordnetes Bild zu bringen.

Eine weit verbreitete und mit die älteste Methode zur Darstellung von Antikörpern ist die Immunfluoreszenz (IFL) (12,40). Als Antigenpool dienen Kryostatschnitte von verschiedenen menschlichen und tierischen Geweben und diverse Zell-Linien. Die Zell-Linien haben gegenüber den Geweben den Vorteil der größeren Kerne und Nukleoli (66). Auch kann man mit Hilfe verschiedener Zell-Linien Antigene nachweisen, die diese Zell-Linien nach Transformation exprimieren, die in Gewebeschnitten nicht nachzuweisen sind. Ein Beispiel ist die Produktion des mit rheumatoider Arthritis (RA) assoziierten nukleären Antigens (RANA) durch Raji-Zellen (Lymphoblastoide Zell-Linie durch Epstein-Barr Virus transformiert)(18,68).

Jedoch ist es wichtig zu wissen, mit welchem Gewebe welche Antikörper bevorzugt nachzuweisen sind, da der Antigengehalt von Gewebe zu Gewebe sehr stark variieren kann. So zeigt sich z.B., daß Anti-SS-A Antikörper sehr schwach mit Mäuseniere in der IFL reagieren, während die Fluoreszenz unter Verwendung von Hundenieren stärker ist (30). Leider hat auch diese in der Routine häufig eingesetzte Methode ihre Schwachstellen. Man sieht keine Fluoreszenz, obwohl verschiedene Gewebe verwendet werden. Die Ursache dafür ist in der Behandlung der Gewebe zu sehen, wobei die Antigene zerstört werden (28).

Eine andere Methode, die Doppelimmundiffusion nach Ouchterlony, bei der Antigene und die gegen sie gerichte-

ten Antikörper präzipitieren und so in einem Agarosegel sichtbar werden, kann in diesem Fall oft den immunologischen Nachweis erbringen. Aber auch hier ist es äußerst wichtig die richtige Antigenquelle zu finden. Während sich die extrahierbaren nukleären Antigene (ENA) zu einem hohen Prozentsatz aus Kernen vom Kalbsthymus extrahieren lassen (57), finden sich andere Antigene wie das SS-A bevorzugt in Kernen einer menschlichen lymphoblastoiden B-Zell-Linie (Wil_2-Zellen)(46).

In verschiedenen Untersuchungen konnte man im Laufe der Jahre eine gewisse Spezifität einiger Antigene für verschiedene Autoimmunerkrankungen finden. Ich denke dabei an die antimitochondrialen Antikörper bei autoimmunen Lebererkrankungen, denke an die vielfältigen Antikörper bei organspezifischen Autoimmunerkrankungen und die Kernantikörper bei den Kollagenerkrankungen.

So weiß man inzwischen, daß bei einigen Kollagenosen wie dem LE in einem hohen Prozentsatz Antikörper gefunden werden, die als recht spezifisch anzusehen sind. Es sind dies die Antikörper gegen die Doppelstrang-DNA (ds-DNA) (10,24,35,58), die in 60-70% bei Patienten mit LE nachweisbar sind, und die Anti-Sm Antikörper, die in 30-40% in der nicht akuten Phase und in 75% während der akuten Phase der Erkrankung erscheinen (53,66).

Die Häufigkeit der LE Patienten, die keine Kernantikörper in der IFL haben, wird mit 5% angegeben. Die Erklärungen dafür sind einmal in der Technik zu suchen, sei es der Prozon Effekt (36), oder im Fehlen des Antigens in dem verwendeten Substrat.

Einige Patienten scheinen niemals im Verlauf ihrer Krankheit Antikörper zu produzieren, andere werden sofort mit

Kortikosteroiden oder Immunsuppressiva therapiert, bevor die serologische Diagnostik gemacht werden kann. Es kann bei einer ausgeprägten Nierenbeteiligung zu einer Proteinurie kommen, was zu einem Verlust von Antikörpern führt (51). Andere Untersuchungen sprechen dafür, daß die Antikörper in Immunkomplexen gebunden sind und somit dem Nachweis entgehen (15,39).

Bei weitem nicht so eindeutig, wie bei dem oben erwähnten ds-DNA Antigen, ist die immunologische Stellung von anderen Antigenen, wie dem Ro(SS-A)(63). Antikörper gegen das SjD Antigen wurden 1961 von Anderson et al.(9) mit der Immundiffusion bei einer Reihe von Patienten mit Sjögren Syndrom beschrieben. Unabhängig davon berichteten Clark et al. (22) über einen Anti-Ro Antikörper, den sie bei einer Patientin mit einem ausgeprägtem SLE fanden. 1976 veröffentlichten Alspaugh et al. (6) Untersuchungen über einen Anti-SS-A Antikörper, welcher zumeist bei Patienten mit Sjögren Syndrom und einer Sicca-Symptomatik gefunden wurde.

Während Anderson das Antigen aus menschlicher Schilddrüse gewann, verwendete Clark einen humanen Milzextrakt (HSE), Alspaugh wiederum benutzte Wil_2-Zellen.

Durch Austausch von Referenzseren und den verschiedenen Antigensubstraten fand man, daß SjD, Ro und SS-A immunologisch identisch waren, nachgewiesen in der Immundiffusion (8). Es stellten sich jedoch Unterschiede über die intrazelluläre Lokalisation des Antigens heraus. Auch wurden abweichende Verhalten bezüglich der Enzymsensitivität und des Molekulargewichtes festgestellt. Einige Autoren beschrieben Ro als ein cytoplasmatisches Antigen (22,38,43), Alspaugh meinte es wäre ein Kernantigen, Anderson fand abweichend davon Hinweise für beide Möglich-

keiten. Weiterhin fanden sich in der Charakterisierung der Antigene durch Wärme- und Enzymbehandlung Unterschiede. Während SjD und Ro durch eine Temperatur von 56°C, Trypsin, DNAse und RNAse in ihrer Präzipitationswirkung nicht zu beeinflussen waren, konnte SS-A durch Trypsinbehandlung zerstört werden (3). Das Molekulargewicht dieses immunologisch identischen Ro(SS-A) Antigens wurde zwischen 100,000 und 154,000 Daltons angegeben. Molekulare Studien von Lerner et al. (54) zeigten, daß Seren mit Anti-Ro kleine RNA Partikel binden, die mit Y_2,Y_3 und Y_4 bezeichnet wurden, die sich aber von den small-RNA Partikeln (U_1-U_5) der Sm/RNP Gruppe unterscheiden. Angaben über die Isolierung von Ro(SS-A) wurden bisher nur von Venables gemacht (69).

In einer Reihe von Studien versuchte man die klinische Relevanz von Ro(SS-A) bei verschiedenen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis zu finden. Angaben über Anti-Ro beim LE schwankten zwischen 0 und 81% (3,6). Beim Sjögren Syndrom fand sich eine Verteilung von 6 bis 87% (3,42). Eine häufige Assoziation wird dem Anti-Ro(SS-A) mit der Sicca-Symptomatik zugesprochen. Bei anderen autoimmunen Kollagenerkrankungen, wie der progressiven systemischen Sklerodermie (PSS), der Dermatomyositis (DM) oder der rheumatoiden Arthritis (RA) waren Anti-Ro Antikörper äußerst selten zu finden (7). Interessant war die Beobachtung von Scopelitis (59), daß der Anteil der Anti-Ro Antikörper bei Patienten mit einem LE, der klinisch und serologisch gut definiert war, niedriger lag (29%), als bei klinisch und serologisch nicht eindeutig einzuordnenden Patienten mit einer lupus-ähnlichen Symptomatik. Bei diesen Patienten war der Anteil der Anti-Ro höher (53%). Auch wurde in lezter Zeit bei einer Untergruppe des LE, der als subakuter kutaner LE (SCLE) bezeichnet wird, ein Anti-Ro Anteil von 67% beschrieben (11). Wesentliche Merkmale dieser Gruppe sind ausgedehnte, passagere, narben-

los abheilende Exantheme an Stamm und oberen Extremitäten, Myalgien, Polyarthritiden und geringe bis fast keine Beteiligung des ZNS und Niere. Diese Patienten stehen klinisch zwischen discoidem und systemischem LE (16,61,62).

Es stellt sich somit die Frage, ob diese lupus-ähnlichen Symptome, die oft nur als Dermatitis, Arthralgie oder Fieber imponieren, nicht als Ausdruck einer Vaskulitis anzusehen sind. In einer Arbeit von Alexander et al. wurde bereits auf die auffallende Beziehung zwischen Anti-Ro und Vaskulitiden hingewiesen (4).

Arbeiten über die Häufigkeit des Anti-Ro Antikörpers bei autoimmunen Lebererkrankungen wie der primär-biliären Zirrhose (PBC) in Assoziation mit Sicca-Symptomatik, erbrachten einen beträchtlichen Anteil von Anti-Ro positiven Ergebnissen (1,50,55).

Man fragt sich natürlich ob diese Patienten einfach verschiedene voneinander unabhängige Autoimmungeschehen durchmachen, als Ausdruck einer erhöhten Prädisposition. Oder aber sind die Manifestationsformen der vaskulitischen Veränderungen so mannigfaltig, daß sie uns das Bild einer eigenständigen Erkrankung vortäuschen? Auf der einen Seite die Leberaffektion, auf der anderen die für Kollagenosen typischen Symptome. Insofern wäre es natürlich wichtig zu wissen ob Anti-Ro auch bei anderen organspezifischen Autoimmunerkrankungen vorkommt.

Aus diesen Überlegungen heraus stellen sich für die vorliegende Arbeit folgende Fragen:

- Wie ist die Häufigkeitsverteilung von Anti-Ro bei verschiedenen organspezifischen und nicht organspezifischen Autoimmunerkrankungen?

- Ist der Anti-Ro Antikörper als ein eindeutiger Marker für eine bestimmte Kollagenerkrankung zu sehen?
- Wie ist der Anti-Ro Anteil bei den Kollagenosen, die klinisch und serologisch nicht eindeutig klassifiziert werden können?

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Autoimmunerkrankungen mit der Immundiffusion auf das Vorhandensein von Anti-Ro Antikörpern untersucht. Daran anschließend folgt ein Vergleich der Anti-Ro positiven Fälle an Hand ihrer klinischen Symptome und ihrer serologischen Parameter.

Mit Hilfe der Säulenchromatographie wurde versucht Ro aus humanem Milzextrakt (HSE) zu isolieren.

B. METHODEN UND PATIENTEN

I. Methoden

1. Herstellung des humanen Milz(spleen)-Extraktes (HSE)

Humane Milz wurde sofort nach Splenektomie auf Eis gelegt und spätestens bis zu sechs Stunden danach verarbeitet.

Die Antigenpräparation erfolgte nach der Methode von Scopelitis (59). Die Milz wurde von Kapsel, Bindegewebe und Fettbestandteilen sauber gereinigt und in kleine Würfel geschnitten. Gleiche Teile Milz und Puffer (0,25M Saccharose in 0,01M Phosphat Puffer mit einem pH 6.2) wurden drei Minuten mit einem Mixer (VirTis "45"- Homogenizer, Stufe 30) verquirlt. Weiterhin wurde das so gewonnene Homogenisat mit 105,000g, 15min. (Beckmann Spinco L2 50B, Rotor 45 Ti) zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipetiert und diente als Antigenquelle. Der ganze Prozeß wurde bei 0-4°C durchgeführt.

2. Versuch der Isolierung von Ro aus humanem Milzextrakt (HSE) durch Säulenchromatographie

2.1. Säulenchromatographie mit Sepharose 6B-Cl

Eine 2.6 X 100 cm Säule (K 26X100 Pharmacia) wurde mit 370 ml Sepharose 6B-Cl gefüllt. 3 ml des HSE mit einer Proteinkonzentration von 30mg/ml wurde aufgetragen und mit Phosphat-Puffer (PBS Seromed) pH 7.2 eluirt. Der Fraktionssammler (Ultraroc^{R} Fraction collector LK B 7000) wurde so eingestellt, daß pro Fraktion 90 Tropfen (6ml) mit 5 Tropfen/min. aufgefangen wurden. Die Peak wurden gepoolt und mit einem BM-100 Filter (Fa. Berghof Membran-

filtertechnik) eingeengt.

2.2. Säulenchromatographie mit Sepharose G-100

Auf eine zweite Säule (1.6 X 70 cm mit Sepharose G-100 gefüllt) wurde jeweils 1ml von Peak 2 und 3 aus dem vorherigen Säulenlauf aufgetragen. Die Tropfgeschwindigkeit war wieder 5 Tropfen/min. mit 70 Tropfen pro Fraktion. Eluirt wurde mit dem gleichen PBS-Puffer wie vorhin. Die Fraktionen wurden mit einem YM 30 Filter (Fa.Diaflow) eingeengt.

2.3. Säulenchromatographie mit Sepharose G-200

Peak 2 (1ml) der 6B-Säulenchromatographie wurde auf eine Sepharose G-200 Säule (1.6 X 70 cm) aufgetragen, und mit der gleichen Tropfgeschwindigkeit und gleichem Puffer wie oben eluirt. Eingeengt wurde mit einem BM-100 Filter.

3. Proteinbestimmung

Der Proteingehalt des HSE und der säulenchromatographisch gewonnen Fraktionen wurde nach der Methode von Bradford (17) durchgeführt. Als Eichkurve diente eine Verdünnungsreihe aus kristallinem Rinderserumalbumin (BSA der Fa. Behring). Die Extinktionen wurden bei 595nm mit einem Zeiss-Photometer gemessen.

4. Behandlung des humanen Milzextraktes (HSE) mit verschiedenen Enzymen

4.1. Behandlung mit DNAse I

Der HSE mit dem darin enthaltenden Ro Antigen wurde nach Angaben von Alspaugh (5) behandelt. Die DNAse I aus Rin-

derpankreas Grad II/lyophilisiert, Cot.-Nr. 104 159 bezogen wir von Boehringer/Mannheim. Das Enzym/Substrat Verhältnis wurde zwischen 1/1 und 1/100 gewählt. Die DNAse Behandlung wurde in einem 0,01M PBS-Puffer, pH 7.4 unter Zugabe von 0.006M Magnesiumchlorid durchgeführt. Die Enzym-Substrat Gemische wurden bei 37°C für zwei Stunden in ein langsam kreisendes Wasserbad gelegt. Das behandelte Substrat wurde in der Immundiffusion (ID) im Vergleich zum unbehandelten getestet.

4.2. Behandlung mit RNAse A

Bei der RNAse Behandlung (RNAse A, Rinderpankreas,Cot.-Nr. 109 169) wurden die gleichen Bedingungen eingehalten wie bei der DNAse Behandlung.

4.3. Trypsinbehandlung

Die Trypsinbehandlung (Trypsin, Rinderpankreas,Cot.-Nr. 109 819, Fa.Boehringer) wurde in einem 0.04M Tris Puffer mit einem pH 8.1 unter Anwesenheit von 0.0115M Ca-Ionen durchgeführt. Gestoppt wurde die Reaktion mit einem Trypsin-Inhibitor (Hühnereiweiß, Cot.-Nr. 109 878, Fa. Boehringer).

5. Wärmebehandlung

Eine Probe des HSE wurde für 30,60,120 min. in einem Wasserbad von 37°C erwärmt; eine zweite Probe wurde einer Temperatur von 56°C für 15,30,45,60 min. ausgesetzt. Der so behandelte HSE wurde in der Immundiffusion gegen eine unbehandelte Probe getestet.

6. Herstellung des Agarose-Geles für die Immundiffusion

Petrischalen der Fa.Nunc (Durchmesser 6cm) wurden ver-

wendet. Ein 0,4% Agarose Gel (Litex Agarose Typ HSA, Cot.-Nr. 06-114-01, Fa.Peasel im 0,03M PBS-Puffer pH 7.3) wurde so lange erhitzt bis es klar wurde. 6 ml des Geles wurden in eine Petrischale gegossen, und nach dem Abkühlen bei 4°C gelagert. Nach ca. 2 Tagen konnten die Gele für die Immundiffusion verwendet werden.

7. Indirekte Immunfluoreszenz (IFL)

Alle Seren wurden in der indirekten Immunfluoreszenz (IFL) nach der Methode von Mackay und Ritts (37) auf Antikörper gegen Kerne (ANA), Mitochondrien (AMA), glatte Muskulatur (SMA), Endothel (AEA), Sarkolemm (ASA), Fibrillen (AFA), Parietalzellen und Schilddrüsengewebe untersucht. Die Studien wurden an 4 m dicken Gefrierschnitten der menschlichen Schilddrüse, sowie an Magen, Niere, Herz und Leber der Ratte durchgeführt. Die Schnitte wurden mit Patientenserum (Verdünnung 1:10) überschichtet, 30min. inkubiert, danach 2 mal mit 60mMol PBS-Puffer pH 7.4 gewaschen. Anschließend erfolgte die Inkubation (30min.) mit Fluorescein-markierten Antisera gegen IgG, IgM, IgA (Verdünnung 1:35, Wellow Fluorescent Antibodies, Anti-Human Immunglobulins (Sheep), Cot.-Nr. K 8069). Nach erneutem Waschen wurde mit Glycerol eingedeckt. Die Auswertung erfolgte mit einem Leitz-Universal Auflichtmikroskop Orthoplan, Sperrfilter S 525, Erregerfilter KP 500 und BG 38.

8. Nachweis von Doppelstrang-DNA (ds-DNA) Antikörpern

Zur Bestimmung von Anti-ds-DNA wurde ein quantitativer Fluoreszenz-Immuno-Assay (FIAX^{R} Test Kit, K-DNA Antibodies, International Diagnostic Technology IDT, Santa Clara, California) verwendet.

9. Nachweis von Antimitochondrialen Antikörpern (AMA) in der Immundiffusion

Der Nachweis von präzipitierenden AMA in der Immundiffusion erfolgte nach der Methode von Miyachi et al. (45).

10. Nachweis von Anti-M_2 Antikörpern im ELISA

Der Nachweis des Anti-M_2 Antikörpers erfolgte mit einem modifiziertem Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

11. Bestimmung verschiedener Laborwerte

Die Bestimmung der restlichen in der Arbeit aufgeführten Laborparameter, wie Transaminasen (GOT,GPT), alkalische Phosphatase (aP), Elektrophorese, Immunglobuline, Differentialblutbild und Rheumafaktoren erfolgten nach den allgemein üblichen Labormethoden.

II. Patienten

1. Gesamtübersicht der untersuchten Patienten

Tabelle 1 Getestete Patientenkollektive mit organspezifischen- und nicht organspezifischen Autoimmunerkrankungen, sowie Kontrollgruppen

Diagnose	Anzahl getestet
1. Organspezifische AI-Erkrankungen	
- Primäres Myxödem	18
- Typ I Diabetes mellitus	24
- Morbus Basedow	34
- Hashimoto Thyreoiditis	17
- Myasthenia gravis	24
- Morbus Addison	25
2. Kollagenosen	
- Rheumatoide Arthritis	50
- Systemischer Lupus erythematodes	40
- Discoider Lupus erythematodes	43
- Sjögren Syndrom	19
- Sharp Syndrom	34
- Progressive systemische Sklerodermie	40
- Kollagenosen ohne definitive Zuordnung	27
3. Autoimmune Lebererkrankungen	
- Primär-biliäre Zirrhose	154
- Chronisch aggressive Hepatitis	58
4. Kontrollgruppen	
- Gesunde Blutspender und Laborpersonal	100
- Nicht autoimmune Erkrankungen	250

Seren von insgesamt 957 Patienten wurden getestet. Davon entfielen 142 auf organspezifische Autoimmunerkrankungen, 253 auf Kollagenerkrankungen, 212 auf autoimmune Lebererkrankungen, 250 auf nicht autoimmune Erkrankungen und 100 auf Normalpersonen (Tab.1).

2. Herkunft der Seren

Die Seren wurden von verschiedenen Kliniken aus der ganzen BRD zur Erhebung eines Immunstatus zugesandt. Der größte Teil der Seren stammte aus der Hautklinik, der HNO-Klinik und aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen. Die Kontrollseren stammten einerseits von gesunden Blutspendern der Blutbankzentrale Tübingen und andererseits von Mitarbeitern des Labors.

3. Diagnostik bei Patienten mit organspezifischen Autoimmunerkrankungen

Bei den Patienten mit primärem Myxödem bestand klinisch eine signifikante Hypothyreose, wohl als Zustand nach inapparent verlaufender Immunthyreoiditis Hashimoto, mit Verlust an funktionstüchtigem Schilddrüsengewebe. In einigen Fällen wurden Antikörper gegen Schilddrüsengewebe in der IFL gefunden.

Die Typ I Diabetes mellitus Patienten hatten neben einem ausgeprägtem Insulinmangel fast ausnahmslos Antikörper gegen Inselzellen. Die hohe Anzahl von positiven Inselzell-AK ist wohl auf die Tatsache zurückzuführen, daß die Bestimmung in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung erfolgte, wonach laut Literatur (56) 65-85% Inselzell-AK nachzuweisen sind. Nach ein paar Jahren fallen die Titer ab. Eine Persistenz der Antikörper gibt Hinweise auf andere endokrine Autoimmunprozesse.

Hyperthyreose, endokrine Ophtalmopathie und der Nachweis von AK gegen TSH-Rezeptoren führten zur Diagnose des Morbus Basedow.

Die Hashimoto Thyreoiditis, eine subakute/chronische lymphozytäre Entzündung der Schilddrüse wurde durch das klinische Symptom der Struma und den Nachweis von AK gegen Thyreoglobulin und Mikrosomen erstellt.

Bei der Myasthenia gravis fanden sich, abgesehen von der markanten klinischen Symptomatik, AK gegen Acethylcholinrezeptoren und quergestreifte Muskulatur.

Antikörper gegen Nebennierenrindengewebe und die klinische Ausprägung beim Fehlen der dort produzierten Hormone zeichnete die Patienten mit einem Morbus Addison aus.

4. Diagnostik bei Patienten mit Kollagenerkrankungen (Tab.2)

Die Diagnosen bei den Kollagenerkrankungen wurden an Hand der Leitbefunde der Tabelle 2 erstellt.

5. Diagnostik bei den autoimmunen Lebererkrankungen

Die Patienten mit der Diagnose PBC hatten in der Histologie Zeichen einer nicht-eitrigen destruktiven Cholangitis und man fand antimitochondriale Antikörper in der IFL.

Patienten mit einer chronisch-aggressiven Hepatitis hatten eine beweisende Histologie und keine Hepatitis AK.

6. Diagnostik der Kontrollgruppe

Die Patienten der Kontrollgruppe hatten Tuberkulose, Ulcus, Gastritis,etc. oder waren gesund. Serologisch waren sie alle unauffällig.

Tabelle 2: Leitbefunde an Hand derer die Diagnose bei den Kollagenosen gestellt wurde

Diagnosen	Kriterien		
	Klinik	Serologie	Biopsie
Rheumatoide Arthritis	Morgensteifigkeit der Finger Arthralgien symmetrische Schwellung der kleinen Gelenke subkutane Rheumaknoten Gelenkdestruktionen	RF-IgM pos. RF-IgG pos.	Synovialdeckzellen-proliferation Rheumaknoten
Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	Arthritis Fieber Purpura Organbeteiligung(Niere, Pleura,Pericard,ZNS)	ANA pos. ds-DNA AK pos. Sm-AK pos. LE-Zellphänomen	Lupus-Banden-Test an läsionalen und nicht läsionalen Stellen der Haut positiv perimembranöse GN bei Nierenbeteiligung
Discoider Lupus erythematodes (DLE)	Purpura der Haut Tapeziernägelphänomen	unauffällig	Hyperkeratosen Lupus-Banden-Test an läsionalen Stellen der Haut positiv, an nicht läsionalen negativ

	Klinik	Serologie	Biopsie
Sjögren Syndrom (SS)	Keratoconjunctivitis Sicca Xerostomie Arthralgien	ANA pos. RF-IgM pos. Ro/La AK pos.	chronisch myoepitheliale Sialadenitis Parotisausführungsgang-AK pos.
Mischkollagenose (MCTD = Sharp-Syndrom)	Arthralgien Raynaud-Symptomatik Myositis Fieber fehlende Nierenbeteiligung	ANA pos. RNP AK pos.	Befunde entsprechen den schon aufgeführten Biopsien
Progressive systemische Sklerodermie (PSS)	Raynaud-Symptomatik Sklerodaktylie Rattenbißnekrosen Organbeteiligung (Gastro-Intestinal-Trakt)	ANA pos. Scl-70 AK pos.	Vermehrte Kollagenbildung der Haut Perivaskuläre lymphozytäre Infiltrate

In Anlehnung an folgende Literatur: 13,23,25,26,31,32,41,48,64,65,73

C. ERGEBNISSE

1. Nachweis des Anti-Ro Antikörpers in der Immundiffusion

Seren von 957 Patienten (Tab.1,S.13) wurden in der Immundiffusion (ID) auf präzipitierende Antikörper untersucht. Als Antigenquellen dienten extrahierbares nukleäres Antigen (ENA) und humaner Milzextrakt (HSE). Es zeigte sich, daß Seren, die Anti-Ro hatten, nur mit HSE präzipitierten, nicht jedoch mit ENA. Seren mit Anti-Ro und Anti-La AK zeigten eine Bande mit ENA, die dem Anti-La/La Komplex entsprach, während mit dem HSE zwei Banden zu beobachten waren, da der HSE die Antigene La und Ro enthält. Auf der Suche nach Anti-Ro ist ENA als Antigenquelle völlig ungeeignet, nicht jedoch der HSE.

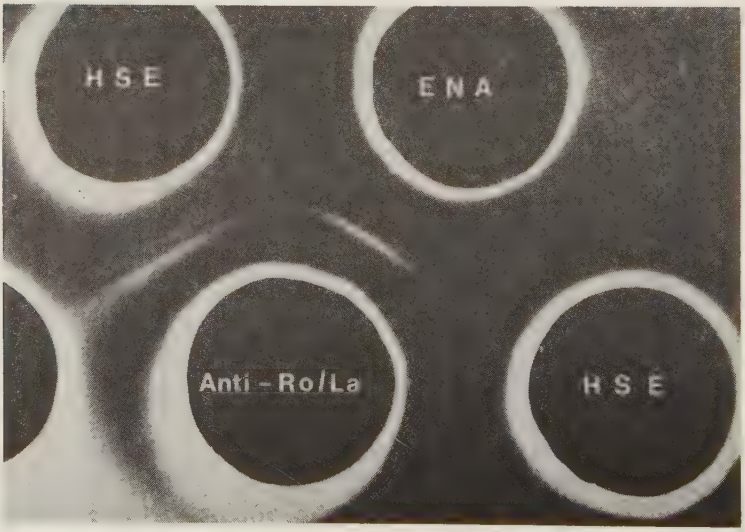


Abb. 1 Nachweis von Anti-Ro und Anti-La mit der ID

2. Ergebnisse der säulenchromatographischen Auftrennung des humanen Milzextraktes (HSE)

2.1. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose 6 B-Cl (Abb.2)

Humaner Milzextrakt (HSE) wurde auf eine Sepharose 6B-Cl Säule aufgetragen und mit PBS-Puffer eluirt.

Man erhielt drei eindeutige Peak und einen nicht so eindeutigen, der aber als separater Peak behandelt wurde. Die einzelnen Fraktionen wurden gepoolt und gegen spezielle Markerseren auf ihren Antigengehalt geprüft. Die optimale Proteinkonzentration der einzelnen Peak, bei der eine gute Präzipitationsbande zu sehen war, lag zwischen 10 und 15 mg/ml. Peak 2 und 3 enthielten beide Sm, RNP, Ro und La, wobei Peak 3 stark mit Hämoglobin kontaminiert war. Peak 2 war zwar frei von Hämoglobin, reagierte aber in der Immundiffusion nicht so stark wie Peak 3, auch bei hohen Proteinkonzentrationen. Peak 1 und 4 zeigten keinen Antigengehalt, jedenfalls reagierten sie nicht mit den üblichen Markerseren. Interessant war die Beobachtung, daß die höchste Antigenaktivität in der hämoglobinhaltigen Fraktion enthalten war. Mit der Sepharose 6B-Cl Säulenchromatographie konnte eine Trennung zwischen Ro und den restlichen in der Milz befindlichen Antigenen nicht erzielt werden.

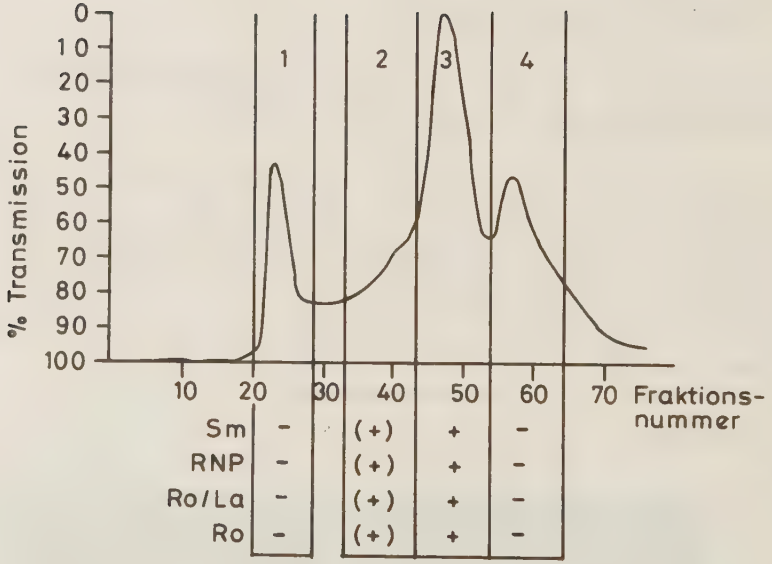


Abb.2 Reaktion der Markerseren Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-Ro/La und Anti-Ro mit Fraktionen, die durch säulenchromatographische Auftrennung(Sepharose 6B) des HSE gewonnen wurden

2.2. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose G-100 (Abb. 3+4)

Der hämoglobinhaltige Peak 3 und der hämoglobinfreie Peak 2 aus dem 6B-Säulenlauf wurden einzeln gepoolt, eingeengt (10mg/ml Proteinkonzentration) und auf eine Sepharose G-100 Säule aufgetragen. Wie die Abb.3 und 4 zeigen, konnte auch damit keine weitere Auftrennung erzielt werden. Der kleine Vorpeak in Abb.4 ist wohl Ausdruck einer Kontamination mit Peak 2 aus dem vorherigen Säulenlauf mit der Sepharose 6B.

2.3. Säulenchromatographische Auftrennung des HSE mit Sepharose G-200 (Abb.5)

1 ml des nicht mit Hämoglobin kontaminierten Peak 2 aus dem Sepharose 6B Säulenlauf wurde auf eine Sepharose G-200 Säule aufgetragen (Proteinkonzentration 10mg/ml).

Man erhielt zwei Peak, einen größeren und einen kleineren. Beide zeigten sie eine Reaktion mit den Markerseren Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-Ro. Während das La Antigen in dem größeren Peak nachzuweisen war, konnte es im kleineren Peak nicht dargestellt werden. Ob La durch die Trennungsverfahren in seiner Antigenwirkung zerstört worden ist, oder dadurch wirklich eine getrennte Gewinnung möglich ist, kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden. Dies hat auch keine große Relevanz, da das La Antigen im großen Peak immer noch mit anderen Antigenen kontaminiert ist, also keine alleinige Gewinnung auf diese Art möglich ist. Eine Isolierung von Ro konnte jedenfalls mit diesen Trennungsverfahren nicht erzielt werden.

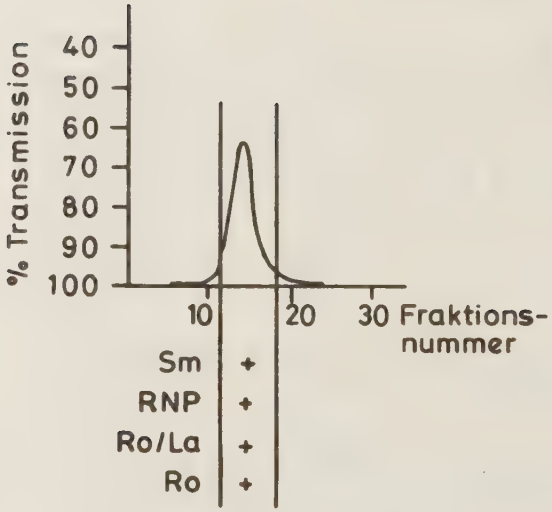


Abb. 3
Reaktion der Markerseren mit der Fraktion, die aus dem Sepharose G-100 Säulenlauf gewonnen wurde. Aufgetragen wurde Peak 2 der Sepharose 6B Gelfiltration.

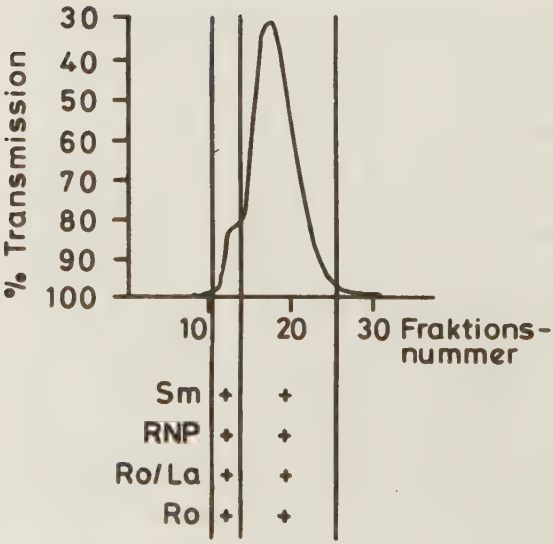


Abb. 4
Reaktion der Markerseren mit der Fraktion, die aus dem Sepharose G-100 Säulenlauf gewonnen wurde. Aufgetragen wurde Peak 3 der Sepharose 6B Gelfiltration.

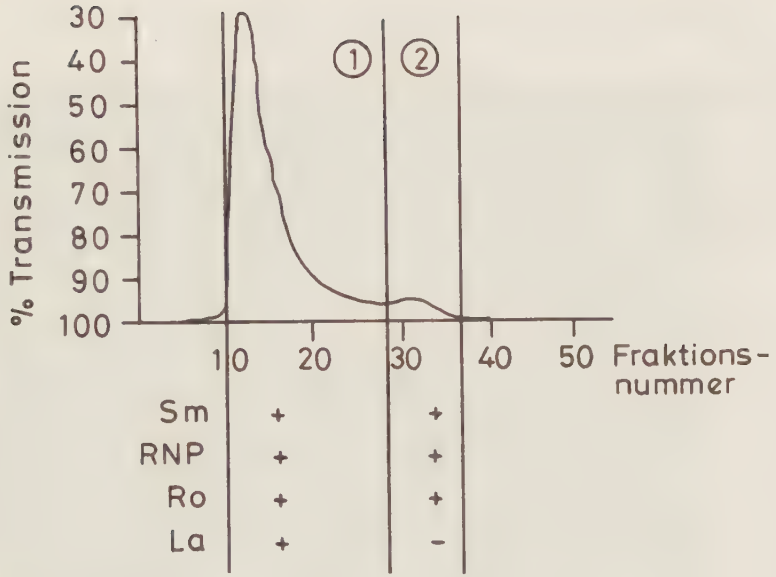


Abb. 5 Reaktion der Markerseren Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-Ro und Anti-Ro/La mit Fraktionen, die aus säulenchromatographischer Auftrennung (Sepharose G-200) des Peak 2 der Sepharose 6B Gelfiltration gewonnen wurden.

3. Ergebnisse der Enzymbehandlung (Abb.6)

3.1. Behandlung mit DNAse I

Die Behandlung des HSE mit der DNAse in einem Enzym/Substrat Verhältnis von 1/1, 1/10 und 1/100 konnte die Antigenität des Ro Antigens nicht beeinträchtigen, wie an der Präzipitation in der Immundiffusion zu sehen ist.

3.2. Behandlung mit RNAse

Auch die Behandlung des HSE mit RNAse im selben Enzym/Substrat Verhältnis wie bei der DNAse konnte nichts an der Aktivität des Ro Antigens bewirken.

3.3. Trypsinbehandlung

In der Behandlung mit Trypsin zeigten sich die gleichen Ergebnisse wie in den vorhergehenden Enzymbehandlungen; keine Zerstörung von Ro.

3.4. Zusammenfassung

Im Vergleich zu anderen Autoren, die ebenfalls Ro als ein sehr robustes Antigen charakterisierten, jedenfalls was die Enzymsensivität anbetrifft, war auch hier Ro weder durch DNAse, RNAse noch durch Trypsin in seiner Aktivität zu zerstören oder zu mindern.

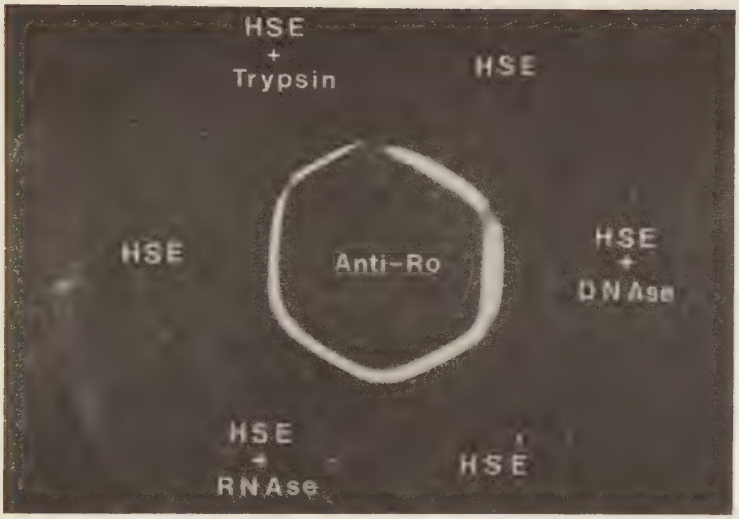


Abb. 6 Nachweis der Enzyminsensivität von Ro

4. Ergebnisse der Wärmebehandlung von Ro (Abb. 7+8)

Die Wärmebehandlung des HSE bei 37°C und 56°C über verschiedene Zeiträume (15- 120 min.) hatte bei allen Proben keine Aktivitätsminderung des Ro Antigens zufolge.

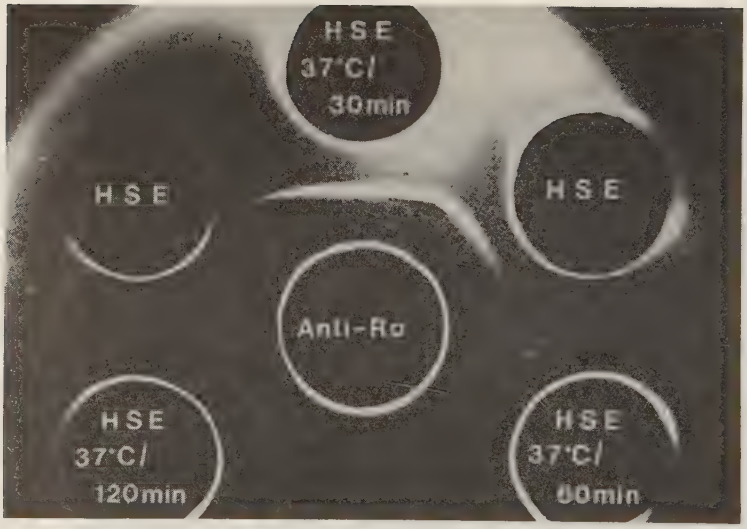


Abb. 7 Nachweis der Wärmeinsensivität von Ro bei 37°C

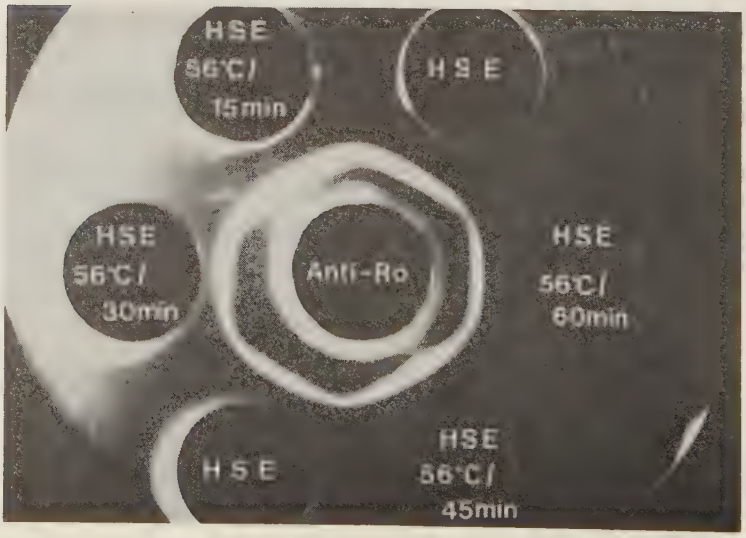


Abb. 8 Nachweis der Wärmeinsensivität von Ro bei 56°C

5. Prävalenz von Anti-Ro bei Kollagenosen und anderen Erkrankungen (Abb.9)

Seren von insgesamt 957 Patienten (Tab.1,S.13) wurden auf das Vorhandensein des Anti-Ro Antikörpers in der Immundiffusion (ID) untersucht.

Von den 142 organspezifischen Autoimmunerkrankungen hatte nur ein Serum Anti-Ro, wobei bei genauer Betrachtung diese Patientin mit der Diagnose, Primäres Myxödem, deutliche Anzeichen einer beginnenden Kollagenose aufwies. Die Patientin hatte eine Sicca-Symptomatik und seit einigen Jahren wechselnde Arthralgien. Zwar waren eindeutige serologische Befunde im Sinne eines SLE wie der Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA) oder Anti-ds-DNA AK negativ, aber dennoch sind die positiven Anti-Ro AK als Hinweis für eine Kollagenerkrankung zu sehen. Beide Erkrankungen sind vielleicht Ausdruck eines multilokulären Autoimmungeschehens.

Bei den Patienten mit autoimmunen Lebererkrankungen hatte in der Gruppe der chronisch aggressiven Hepatitiden (CAH) niemand Anti-Ro Antikörper. Von den 154 Patienten mit primär-biliärer Cirrhose (PBC) hatten 8(5%) Seren Anti-Ro. Alle Patienten hatten eine histologisch und serologisch gesicherte PBC. Die Voraussetzungen für eine serologische Sicherung der PBC Diagnose waren antimitochondriale Antikörper (AMA) in der IFL (pos. bei 100%), Anti-M_2 Antikörper im ELISA (pos. bei 60%) und präzipitierende AMA in der Immundiffusion (pos. bei 87%). Laborchemisch fanden sich bei allen Seren erhöhte Transaminasen (GOT,GPT) und eine erhöhte alkalische Phosphatase (aP). Im Unterschied zu Anti-Ro negativen PBC Patienten fanden sich bei den 8 Anti-Ro positiven Seren in 50% ANA. Die Sicca-Symptomatik, die als eine recht häufige extrahepatische Manifestation

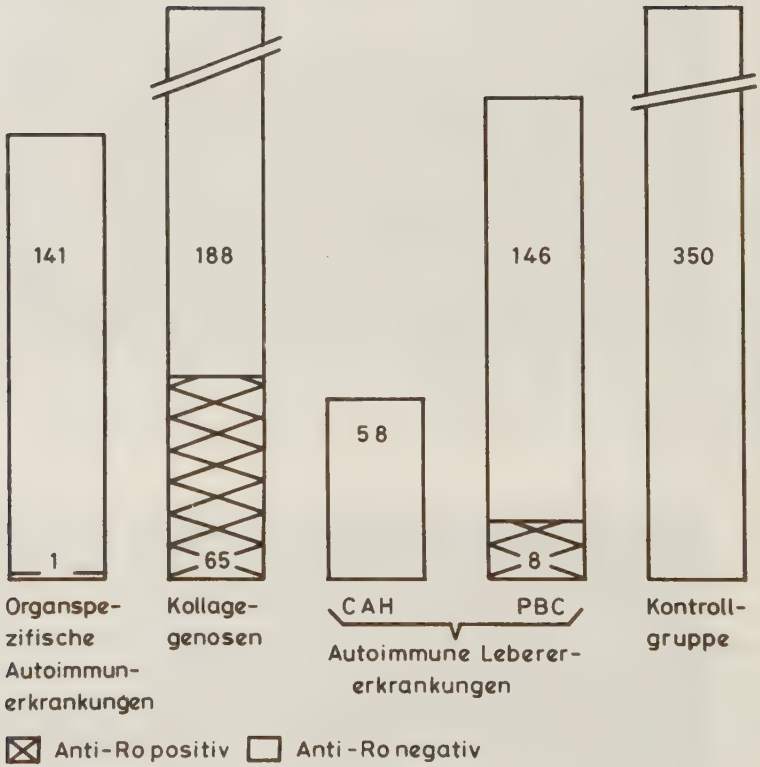


Abb.9 Prävalenz von Anti-Ro bei Kollagenosen und anderen Erkrankungen

der PBC beobachtet wird (44), war in 50% der Anti-Ro positiven Fälle zu finden.

Meiner Meinung nach spricht dies dafür, daß diese Anti-Ro positiven Patienten neben ihrer gesicherten PBC weiterhin noch Anzeichen einer Kollagenose aufweisen. Die klinische Ausprägung der PBC ist bei den Patienten zur Zeit stärker, und die Diagnose und Therapie werden primär in diese Richtung ausgerichtet, aber dennoch sollte man die beginnenden Zeichen der Kollagenerkrankung, nicht zuletzt durch den Anti-Ro Nachweis, nicht außer acht lassen.

In der Kontrollgruppe fanden sich keine Anti-Ro Antikörper.

Eindeutig an der Spitze der Anti-Ro Verteilung standen die Kollagenosen mit 65 von 253 (26%) positiven Fällen.

Aus dieser Häufigkeitsverteilung kann man bereits sagen, daß Anti-Ro ein Antikörper ist, der mit den Kollagenerkrankungen assoziiert ist. Bei welcher speziellen Kollagenose er eine führende Rolle spielt, soll im Folgenden erörtert werden.

6. Häufigkeitsverteilung von Anti-Ro bei Kollagenosen

Aus der Abb.10 ist die Verteilung von Anti-Ro bei den einzelnen Erkrankungen der Kollagenosegruppe zu ersehen. Einen hohen Anteil (85%) Anti-Ro findet man in der Gruppe der Patienten mit einer Kollagenerkrankung, die zur Zeit nicht genau zugeordnet werden kann. Diese Gruppe, die später ausführlich besprochen wird, nimmt in gewisser Weise eine Sonderstellung ein.

Bei den Kollagenosen mit gesicherter Diagnose sieht die Anti-Ro Verteilung folgendermaßen aus:

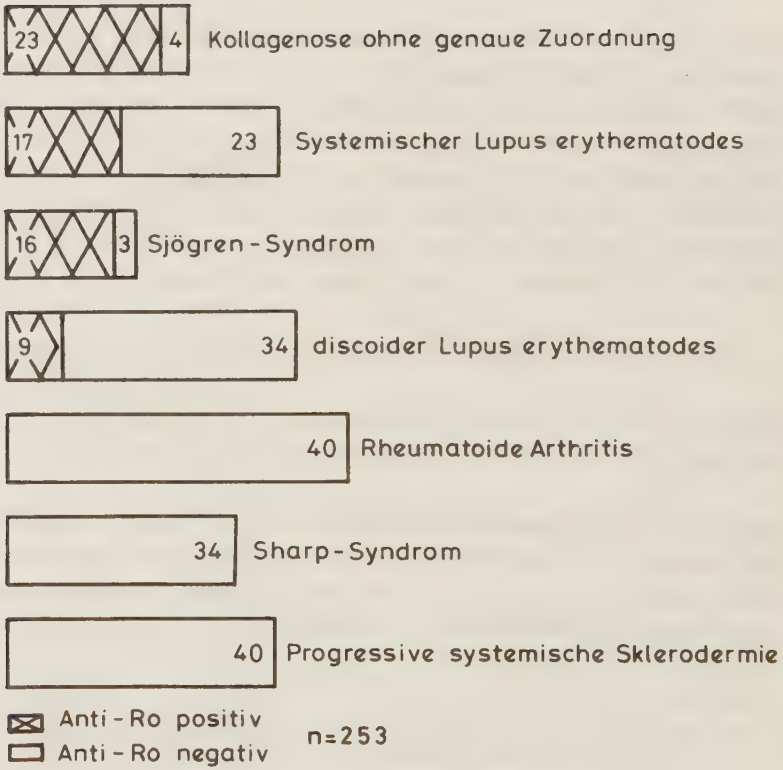


Abb.10 Häufigkeitsverteilung von Anti-Ro in Kombination mit anderen Antikörpern bei Kollagenosen

Die meisten Anti-Ro positiven Seren mit 84% (16 pos. von 19 getesteten) finden sich beim Sjögren Syndrom. Dann folgt der SLE mit 42% (17 pos. von 40 getesteten) und zuletzt der DLE mit 21% (9 pos. von 43 getesteten), wobei man sagen muß, daß diese Patienten nicht nur eine reine Hautbeteiligung im Sinne eines discoiden LE aufweisen, sondern eher dem LE-Subset eines subakuten cutanen LE (SCLE) zugesprochen werden können. Diese Untergruppe oder Variation des LE, die mit passageren narbenlos abheilenden Exanthemen am Stamm und den oberen Extremitäten, Zytopenie, Myalgie, Polyarthritis und gelegentlicher leichter Beteiligung von Niere und ZNS einhergeht, kann wohl als eine Form zwischen discoidem und systemischem LE gesehen werden. Aufgrund der negativen routineserologischen Befunde und der typischen Hautmanifestation, die oft als einziger Hinweis vorkommt, wird oft die Diagnose des discoiden LE gestellt.

Keine Anti-Ro Antikörper finden sich bei den Patienten mit rheumatoider Arthritis, dem Sharp Syndrom und der progressiven systemischen Sklerodermie.

7. Verteilung von Anti-Ro Antikörpern isoliert und in Kombination mit anderen Kernantikörpern bei Kollagenerkrankungen (Abb.11-14)

Von früheren Untersuchungen ist bekannt, daß Anti-Ro in bis zu 75% mit Anti-La assoziiert ist, weniger häufig findet man Anti-Ro gleichzeitig mit anderen Antikörpern wie Anti-Sm oder Anti-RNP.

Wie in den Abb.11-14 zu sehen ist, finden sich beim SLE Anti-Ro isoliert bei 9 (23%) Patienten, in Kombination mit Anti-La bei 5 (13%), mit Anti-Sm/Anti-RNP bei 2 (5%) und mit Anti-Sm bei 1 (2%) der Patienten. Daraus wird ersichtlich, daß Anti-Ro, wenn er zusammen mit anderen Antikörpern vorkommt, am häufigsten mit Anti-La zu finden ist. Diese 3 Patienten, die Anti-Sm AK hatten, welche ja pathognomonisch für den SLE sind, wiesen Anti-Ro nur am Beginn ihrer Erkrankung auf. Während Anti-Sm oder Anti-RNP auch unter Therapie persistierten, waren Anti-Ro Antikörper nach hochdosierter Therapie mit Kortikoiden und Immunsuppressiva nicht mehr nachweisbar. Interessanterweise kamen sie aber bei Therapieunterbrechung wieder zum Vorschein.

Beim Sjögren Syndrom traten Anti-Ro AK in Kombination mit Anti-La in 9(47%) Fällen weitaus häufiger auf, als Anti-Ro isoliert zu finden war (32%). Dies entspricht den früheren Beobachtungen, wonach die Kombination von Anti-Ro/La Antikörpern als pathognomonisch für das Sjögren Syndrom angesehen wird.

Beim discoiden LE war die Verteilung von isoliertem Anti-Ro im Vergleich zu der Kombination Anti-Ro/La annähernd gleich.

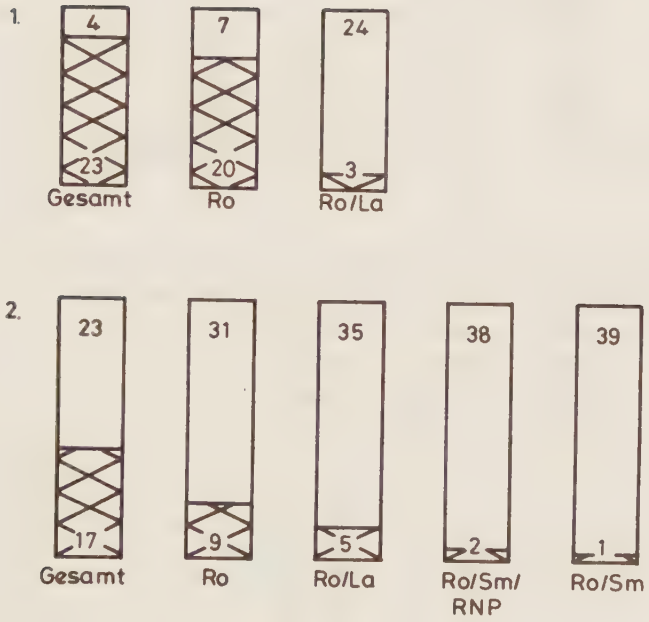
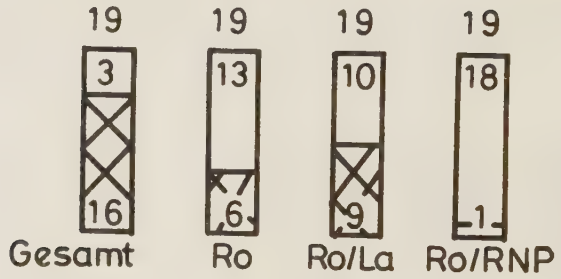


Abb. 11+12 Verteilung von Anti-Ro AK isoliert und in Kombination mit anderen Kernantikörpern bei
1.Kollagenosen ohne genaue Zuordnung
2.Systemischem Lupus erythematodes

3. Sjögren-Syndrom



4. Discoider Lupus Erythematodes

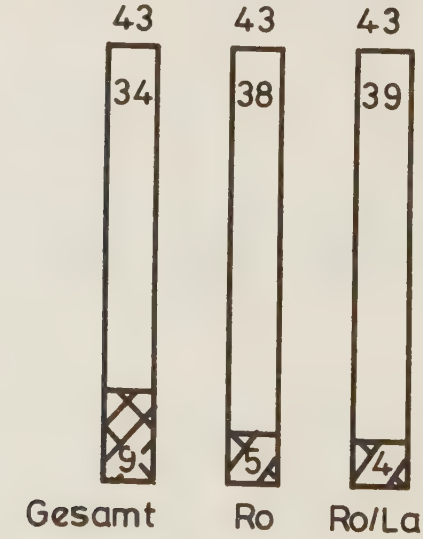


Abb.13+14 Verteilung von Anti-Ro AK isoliert und in Kombination mit anderen Kernantikörpern

Bei den Erkrankungen, die ohne entgültige Diagnose waren, aber wohl Zeichen einer Kollagenerkrankung boten, waren die isolierten Anti-Ro Antikörper mit 20(74%) Fällen weitaus öfter vertreten, als in Kombination mit Anti-La. Dabei konnten nur 3 (8%) Seren gefunden werden.

8. Häufigkeit der für den SLE typischen Leitbefunde bei Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen (Abb.15)

Serologische Parameter, die den SLE zusammen mit den nachweisbaren klinischen Symptomen sichern, sind positive antinukleäre Antikörper, positive Anti-ds-DNA AK und in ca. 30% Anti-Sm Antikörper. Wie aus der Abb. 15 zu sehen ist, sind diese Parameter in annähernd gleicher Häufigkeit bei Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Seren zu finden. Auch bei den klinischen Symptomen, die typischerweise beim SLE auftreten wie Erythem und Arthralgien, zeigt sich zwischen Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen kein signifikanter Unterschied. Der einzig interessante Unterschied ist in der Nierenbeteiligung zu sehen. Von den untersuchten 40 Patienten mit einem SLE hatten 17 Patienten Anti-Ro, 23 Patienten hatten keine Anti-Ro Antikörper. Unter den Anti-Ro positiven Fällen fanden sich 5 (29%) Patienten mit einer Nierenbeteiligung in Form einer perimembranösen Glomerulonephritis. Dagegen hatten von den 23 Anti-Ro negativen Patienten 14 (61%) eine Nierenbeteiligung vorzuweisen. Dies legt den Schluß nahe, daß das Vorkommen von Anti-Ro beim SLE eine günstigere Prognose im Hinblick auf eine Nierenbeteiligung aufweist. Keinesfalls kann man jedoch sagen, daß SLE Patienten mit Anti-Ro keine Nierenbeteiligung zu erwarten haben, allenfalls hat die Nierenbeteiligung eine mildere Form und eine bessere Prognose.

9. Häufigkeit der für das Sjögren Syndrom typischen Leitbefunde bei Anti-Ro/La positiven, nur Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fälle (Abb.16)

Die selbe vergleichende Untersuchung hinsichtlich der diagnostischen Leitbefunde bei Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen, wie bei den SLE Patienten, habe ich

Häufigkeit der für den systemischen Lupus erythematodes typischen diagnostischen Leitbefunde bei Anti-Ro pos. und Anti-Ro neg. Fällen

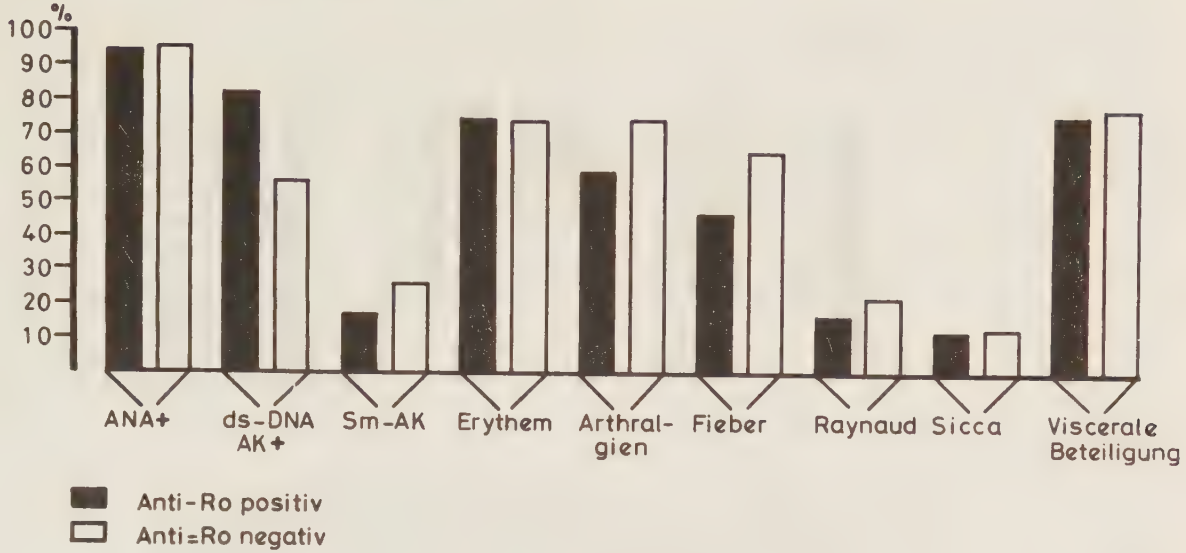


Abb. 15

Häufigkeit der für das Sjögren-Syndrom typischen diagnostischen Leitbefunde bei Anti-Ro/La, isoliert Anti-Ro positiven und nicht präzipitierenden Seren

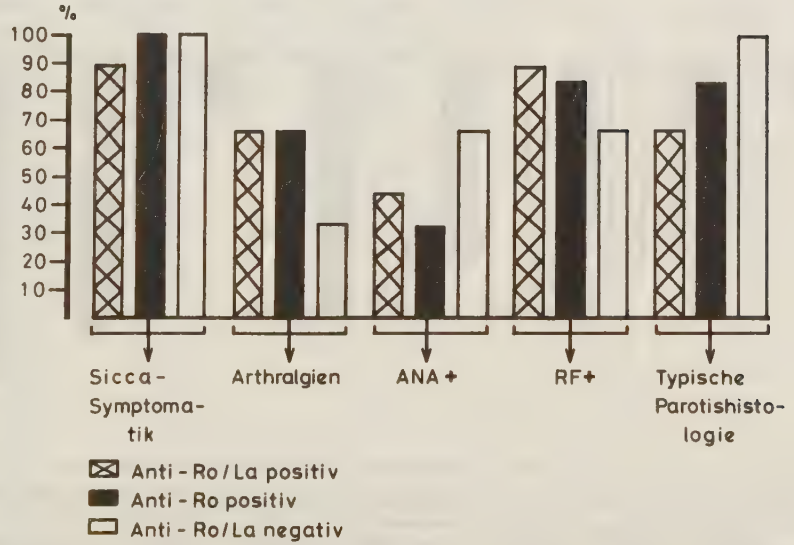


Abb. 16

auch für die Patientenseren mit einem Sjögren Syndrom gemacht. Dabei interessierte es auch zu sehen, ob die diagnostischen Leitbefunde sich bei Seren mit Anti-Ro/La von denen mit Anti-Ro ohne Anti-La und wiederum von den Seren ohne präzipitierende Antikörper unterscheiden.

Wie die Abb.16 zeigt divergieren weder die serologischen noch die klinischen Parameter in ihrer Häufigkeit stark voneinander. Bei den Arthralgien zeigt sich zwischen Anti-Ro positiven und Anti-Ro negativen Fällen eine etwas größere Differenz. Ich würde das jedoch nicht überinterpretieren, da dieses Symptom wie wir wissen schlecht zu objektivieren ist, und andererseits das Patientenkollektiv zu gering ist, um eine statistisch verwertbare Aussage treffen zu können.

Man kann also sagen, daß bei der Diagnosestellung des Sjögren Syndroms die klinischen Symptome wie Sicca-Symptomatik, Arthralgien und die typische Parotishistologie einer myoepithelialen Sialadenitis wesentlich mehr zur Diagnosesicherung beitragen, als die alleinige Serologie. Der Nachweis von ANA, Anti-Ro/La oder nur Anti-Ro , kann eine bestehende Diagnose untermauern, hat aber ohne das klinische Korrelat nur die Berechtigung eines Verdachts und den Anspruch auf eine weitere Beobachtung und Kontrolle des Serums.

10. Prävalenz klinischer und laborchemischer Parameter bei Patienten, deren Seren nur Anti-Ro Antikörper in der Immundiffusion aufwiesen

10.1. Verteilung und Bedeutung verschiedener Antikörper in der Immunfluoreszenz bei Anti-Ro positiven Seren (Abb.17)

Am häufigsten waren antinukleäre Antikörper (in 23 Fällen) bei den 49 Anti-Ro positiven Seren zu finden. Das vorherrschende IFL-Muster war fein- bis grobspeckled.

Die relativ hohe Anzahl von 11 Seren mit antimitochondrialen Antikörpern (AMA) ist auf die 8 PBC Seren mit Anti-Ro zurückzuführen. In einem reinen Kollagenose Kollektiv sind AMA mit 3% nicht so häufig zu finden.

Überraschend war jedoch der recht hohe Anteil von Schilddrüsenantikörpern mit 20%. Ob dies ein Zufall ist, oder ob tatsächlich eine Verbindung zwischen Anti-Ro und Schilddrüsenantikörpern besteht sei dahingestellt. Mir erscheint es als wahrscheinlich, daß diese Patienten prädisponierter als andere für Autoimmunerkrankungen sind und gleichzeitig an zwei Autoimmunerkrankungen leiden, wobei ich den Nachweis von Anti-Ro mit ihrer Kollagenose und den Nachweis von Schilddrüsenantikörpern mit der Schilddrüsenerkrankung in Zusammenhang bringen würde. Wenn dies anders wäre, müßte in dem getesteten Kollektiv von 142 Patienten mit ausschließlich organspezifischen Autoimmunerkrankungen der Anteil von Anti-Ro höher sein. Von den 10 Seren mit Schilddrüsenantikörpern hatten 4 nur Schilddrüsenantikörper, 3 hatten sowohl Schilddrüsenantikörper als auch ANA, und bei den restlichen 3 Seren waren andere Antikörper wie Anti-Sarkolemm (ASA) und Anti-Endothel (AEA) zu finden. Ein weiterer wichtiger Aspekt in der Frage nach der

Prävalenz der Immunfluoreszenzmuster bei 49 Anti-Ro positiven Seren

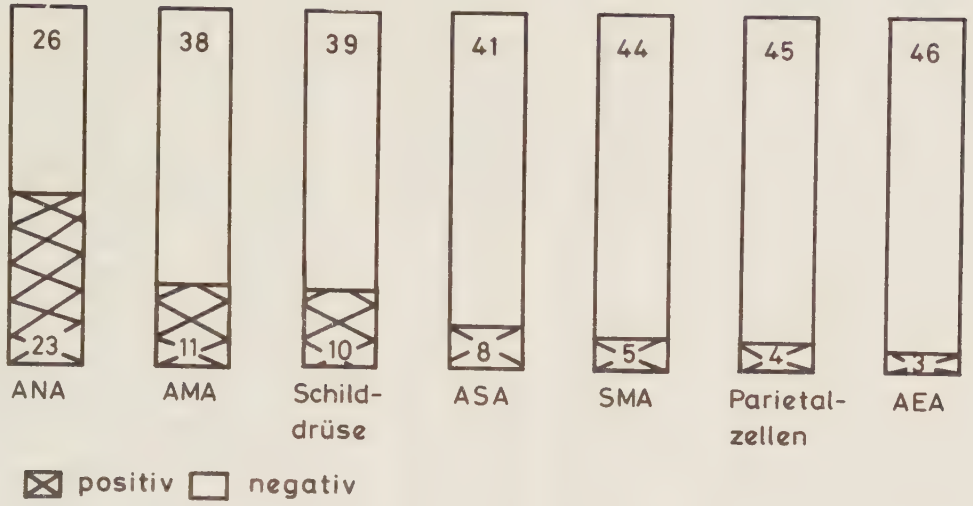


Abb.17

autoimmunen Prädisposition ist der gleichzeitige Nachweis von verschiedenen Antikörpern in der IFL. Es stellt sich die Frage ob Seren mit Anti-Ro auch gleichzeitig eine größere Palette an IFL Antikörpern aufweisen. Die meisten Seren (21 von 49) hatten lediglich einen Antikörper in der IFL, 12 hatten gleichzeitig zwei, 9 hatten keine Antikörper, und die wenigsten (7) hatten drei Antikörper gleichzeitig in der IFL. Mehr als drei Antikörper gleichzeitig waren nicht nachzuweisen. Dies zeigt, daß bei den meisten Patienten mit Anti-Ro AK nicht unbedingt von einer größeren Prädisposition für Autoimmunerkrankungen gesprochen werden kann. Sicherlich gibt es diese erhöhte Prädisposition auch unter den Patienten mit Anti-Ro, aber ebenso können diese Patienten andere Autoimmunphänomene haben.

10.2. Prävalenz einiger Laborparameter bei Anti-Ro positiven Seren (Abb. 18)

In der folgenden Zusammenstellung der Laborparameter bei 49 Anti-Ro positiven Seren interessierte die Frage nach der Verteilung von Laborparametern, die sowohl eine Rolle bei autoimmunen als auch bei anderen Erkrankungen spielen.

Eine stark ausgeprägte BSG Erhöhung hatten mit 86% die meisten Anti-Ro positiven Seren, was zum klinischen Bild der Kollagenerkrankung unbedingt paßt. Auch die Gamma-Globulin Vermehrung, als Zeichen einer chronischen Entzündung, die bei den Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis gefunden wird, zeigt, daß Anti-Ro positive Seren unbedingt mit den Kollagenosen assoziiert werden müssen. Mit einem Anteil von 24% waren die $Alpha_2$-Globuline nicht übermäßig erhöht, waren aber dennoch bei einigen Seren laborchemischer Ausdruck eines akut entzündlichen Prozesses.

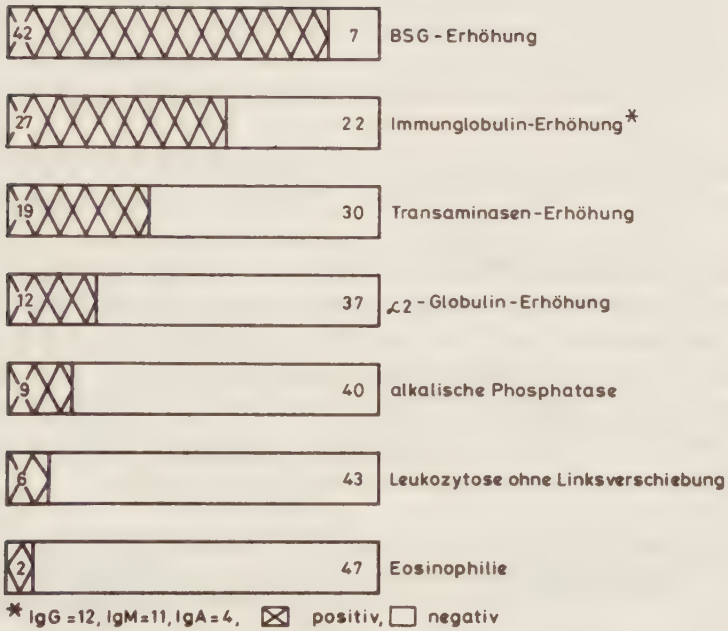


Abb.18

Abb.18 Verteilung einiger wichtiger Laborparameter bei 49 Anti-Ro positiven Seren

Die erhöhten Transaminasen (GOT,GPT) und die erhöhte alkalische Phosphatase (aP) stammten in 8 Fällen von den PBC Patienten, sodaß man sagen muß, daß speziell die erhöhte aP nur Ausdruck einer hepatischen Cholestase ist und keine direkte Assoziation zu Anti-Ro Antikörpern oder etwaigen anderen präzipitierenden Antikörpern hat.

Die Anzahl der Seren mit einer Leukozytose und einer Eosinophilie waren von keiner signifikanten Häufigkeit.

Den Rheumafaktor habe ich in dieser Aufstellung ganz bewußt weggelassen, da er im Grunde ein sehr unspezifischer Laborparameter ist, und bei den Kollagenerkrankungen keine differentialdiagnostisch wichtigen Aufschlüsse bringt. Bis auf das sekundäre Sjögren Syndrom und die rheumatoide Arthritis, wo er fast pathognomonisch ist, kann er bei den restlichen Kollagenosen vernachlässigt werden.

10.3. Häufigkeit und Bedeutung klinischer Symptome bei Patienten mit Anti-Ro positiven Seren (Abb.19)

Mit am häufigsten fanden sich bei dem Patientenkollektiv mit Anti-Ro AK Angaben über Arthralgien, nicht so sehr auf die kleinen Gelenke lokalisiert wie bei der RA, sondern mehr auf die großen. Wesentliche Destruktionen radiologisch fanden sich jedoch nicht.

Die Purpura in Form eines Schmetterlingserythems wie beim SLE, aber auch stamm- und extremitätenbetont wie beim subacuten cutanen LE (SCLE) oder wie bei einer Vaskulitis, fand sich am zweithäufigsten mit 43%.

Verwunderlich war die Beobachtung, daß die Anzahl der Patienten mit einer Raynaud-Symptomatik und die mit einer Sicca-Symptomatik gleich häufig (25%) waren. Die Annahme,

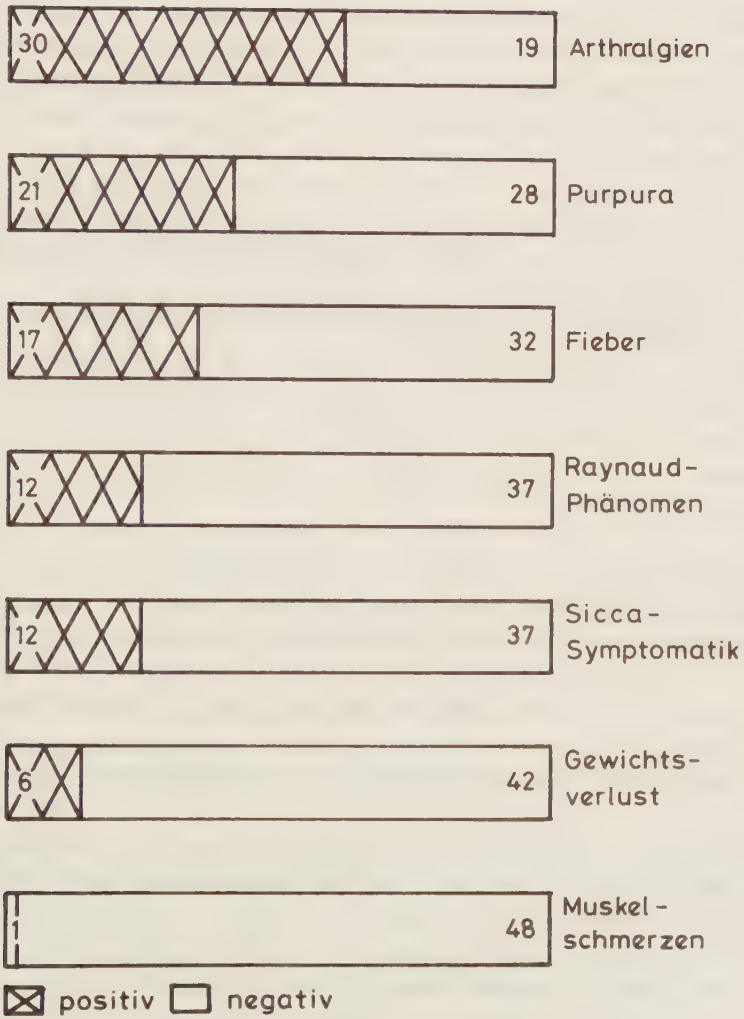


Abb.19 Häufigkeit klinischer Parameter bei 49 Anti-Ro positiven Patienten

daß Anti-Ro gehäuft bei Patienten mit Sicca-Symptomatik vorkommt, kann ich bei diesem Patientenkollektiv nicht unterstreichen. Bei 21 Patienten mit Anti-Ro/La Antikörpern hatten dagegen immerhin 52% auch eine Sicca-Symptomatik, was den Beobachtungen anderer Veröffentlichungen entspricht (49).

11. Besprechung der Anti-Ro positiven Fälle, deren klinische Enddiagnose z.Zt. nicht eindeutig gestellt werden kann und das Spektrum ihrer derzeitigen Symptome (Tab.3, Abb.20)

In Abb.10, in der die Prävalenz des Anti-Ro Antikörpers bei den Kollagenosen aufgelistet ist, findet sich eine Gruppe von Erkrankungen ohne genau differenzierte Krankheitsbezeichnung.

Diese Gruppe von 27 Seren hat mit 85% einen sehr hohen Anteil von Anti-Ro, wobei in 20 Fällen (74%) Anti-Ro allein vorkommt und in 3 Fällen (11%) in Kombination mit Anti-La.

In Tabelle 3 sind die 23 Anti-Ro positiven Patienten aufgelistet, mit Name, Geschlecht, Alter, der derzeitig dominierenden klinischen Befunde und der Verdachtsdiagnose.

Bei 12 von 23 Patienten kann eine differenzierte Verdachtsdiagnose gestellt werden. Fünf Patienten haben am ehesten einen systemischen LE, 3 haben wohl eine rheumatoide Arthritis, 2 haben ein sklerodermieähnliches Krankheitsbild, 1 Patient zeigt Symptome eines Sjögren Syndroms und 1 Patient hat einen Morbus Menière. Äußerst interessant ist die Beobachtung, daß ein Patient mit Morbus Menière Anti-Ro AK hat, obwohl er noch keine klinischen Anzeichen für eine kollagenoseähnliche Erkrankung hat. Daraufhin habe ich ein Kollektiv von 30 gesicherten Morbus Menière Seren ebenfalls

auf Anti-Ro untersucht, aber es fand sich kein weiterer positiver Fall. Der Patient mit Anti-Ro gab anamnestisch Drehschwindel nach links alle 4 Tage an, der bis zu 12 Stunden anhielt, begleitet von Kopfschmerzen, Unterdruck im linken Ohr und leichte Gehörminderung. Die internistische Durchuntersuchung ergab keinen pathologischen Befund. Die leicht erhöhte BSG mit 13/39 n.W. war am ehesten Folge der Rheomacrodex Therapie, sollte aber nach Therapiebeendigung weiterhin kontrolliert werden.

In der IFL konnten schwach positive Antikörper gegen Schilddrüsengewebe nachgewiesen werden, ansonsten war bis auf die Anti-Ro Antikörper serologisch kein Nachweis einer Autoimmunerkrankung zu erbringen.

Die restlichen 11 Patienten bieten klinisch ein vielfältiges Bild an Symptomen. Zwei dieser Seren haben in der IFL antinukleäre Antikörper. Antikörper gegen ds-DNA sind in keinem Fall nachweisbar. Bis auf die positiven Anti-Ro AK scheint diese Patienten nichts zu verbinden, aber dennoch geben immerhin 5 Patienten starke Arthralgien über Jahre an und 2 haben unklare Hautreaktionen.

In welche Richtung sich ihre derzeitigen Symptome und Krankheiten entwickeln, muß abgewartet werden. Meiner Meinung nach wird sich bei den Patienten noch eine Kollagenerkrankung entwickeln. Der Anti-Ro Antikörper kann somit als früher serologischer Marker angesehen werden.

Das Spektrum der derzeitigen klinischen Symptome und Diagnosen ist in Abb.20 zu sehen.

Nr.	Name	m/w	Alter	Klinische Befunde
	- Seren mit Anti-Ro -			
1.	B.L.	w.	62	Pneumonie, Cholangitis
2.	B.S.	w.	57	Arthralgien, Z.n. Hepatitis-B
► 3.	F.J.	m.	29	Arthralgien,Erythem der unteren Extrem.
4.	G.I.	w.	50	Arthralgien, Psoriasis, Gammopathie
► 5.	H.E.	w.	39	Raynaud-S., Beugekontrakturen
► 6.	K.M.	w.	79	Pneumonie, Leberparenchymschaden
► 7.	K.A.	w.	59	Arthralgien, Pleuraergüsse
8.	K.R.	m.	36	Autoimmune Thyreoiditis, V.a. CAH
► 9.	K.T.	w.	49	Arthralgien, subfebrille Temperaturen
10.	K.M.	w.	64	Erythematodesähnliche Lichtdermatose
11.	M.I.	w.	72	Arthralgien, Cholestase-Syndrom
12.	M.H.	w.	60	Sero-pos.PBC, Arthralgien
►13.	R.E.	w.	64	Arthralgien,Parotis-PE mit V.a.Sjögren
►14.	S.A.	w.	59	Arthralgien,V.a.Polymyalgia rheumatica
►15.	S.E.	w.	69	Arthralgien, Z.n.Hepatitis-B
►16.	S.I.	w.	30	Arthralgien, V.a.rheumatoide Arthritis
17.	S.G.	m.	32	Morbus Menière
18.	T.L.	w.	58	Myalgie re.Oberschenkel,ungeklä.Fieber
19.	W.T.	w.	59	Apoplex, Hashimoto-Thyreoiditis
20.	Z.L.	w.	43	Unklare sarkoide Hautreaktion
	- Seren mit Anti-Ro und Anti-La -			
21.	S.K.	w.	50	Monoklonale Gammopathie,kein Plasmozytom
►22.	T.G.	w.	55	Morgensteifigkeit der Gelenke, V.a.RA
►23.	W.E.	w.	54	Arthralgien, V.a.Vaskulitis

► Patienten mit ehester Diagnose eines SLE, RA, Sjögren-Syndrom, Sklerodermie

Tabelle 3 Anti-Ro positive Fälle, deren klinische Enddiagnose noch nicht eindeutig gestellt werden kann, und die derzeitigen klinischen Hauptsymptome

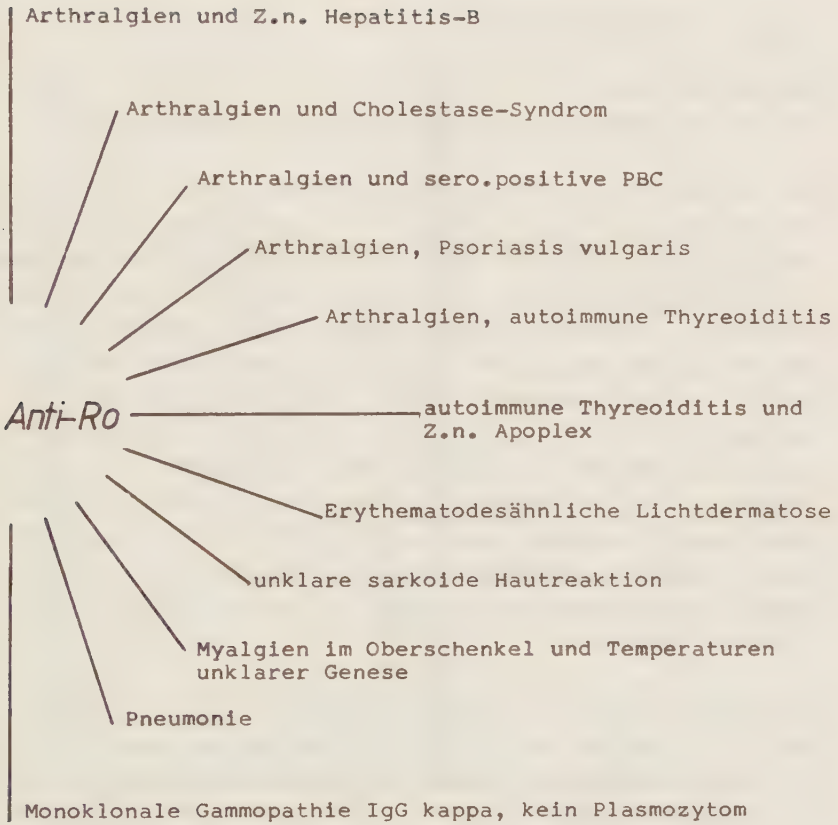


Abb. 20 Anti-Ro positive Fälle, deren klinische Enddiagnose noch nicht eindeutig gestellt werden kann und das Spektrum ihrer derzeitigen klinischen Leitsymptome

12. Darstellung von Krankheitsverläufen bei Patienten mit Anti-Ro Antikörpern

12.1. Patientin H.C. (Abb.21)

Bei der Patientin H.C. (Jg.60)(Abb.21) begann der SLE mit einer Myocarditis und gleichzeitiger BSG Erhöhung 1975.

Bis zu diesem Zeitpunkt ist zu erwähnen, daß die Patientin bis zur Menarche unter Migräne litt, sonst aber keine Anhaltspunkte für eine Kollagenerkrankung bot. Die Ursache der Myocarditis konnte nicht eruiert werden, jedoch blieb die BSG seit diesem Zeitpunkt immer erhöht. 1978 bekam die Patientin eine Meningitis, 1979 wurde zum ersten Mal ein Gesichtserythem beobachtet. Seit 1982 wurde sie, beim Nachweis von antinukleären Antikörpern (ANA) vom feinspeckled Typ in der IFL und Anti-ds-DNA Antikörpern, mit der Diagnose eines SLE therapiert (Decortin-H). 1983 erfolgte eine erneute Aufnahme wegen einer Pericarditis, wobei eine virale Genese ausgeschlossen werden konnte. Die Decortin Dosis wurde je nach Krankheitsaktivität zwischen 7,5 und 25mg/tgl. angesetzt.

Serologisch fiel auf, daß unter Therapie die ANA und die Anti-Ro Antikörper persistierten, während Anti-ds-DNA verschwand. Auch die anfängliche Gamma-Globulin Erhöhung sank unter der Therapie.

Im weiteren Verlauf ihrer Erkrankung gab die Patientin immer wieder Fieberattacken an. Von Seiten des Herzens waren bis jetzt keine neuen Krankheitsschübe zu sehen, jedoch stellten sich ab Februar 1984 erstmals Arthralgien vor allem im Bereich der Handgelenke ein. Daraufhin wurde zusätzlich Imurek^{R} verordnet. Im weiteren Verlauf der Erkrankung bekam die Patientin erneut Kopfschmerzen (Migräne) und Nierensteine.

Verlauf eines LE mit Anti-Ro-AK, der unter Therapie peristiert

H.C., *17.11.60,
Vorgeschichte:
Myokarditis, 1975
BSG ↑ seit 1975
Meningitis, 1978
Erythem, 1979

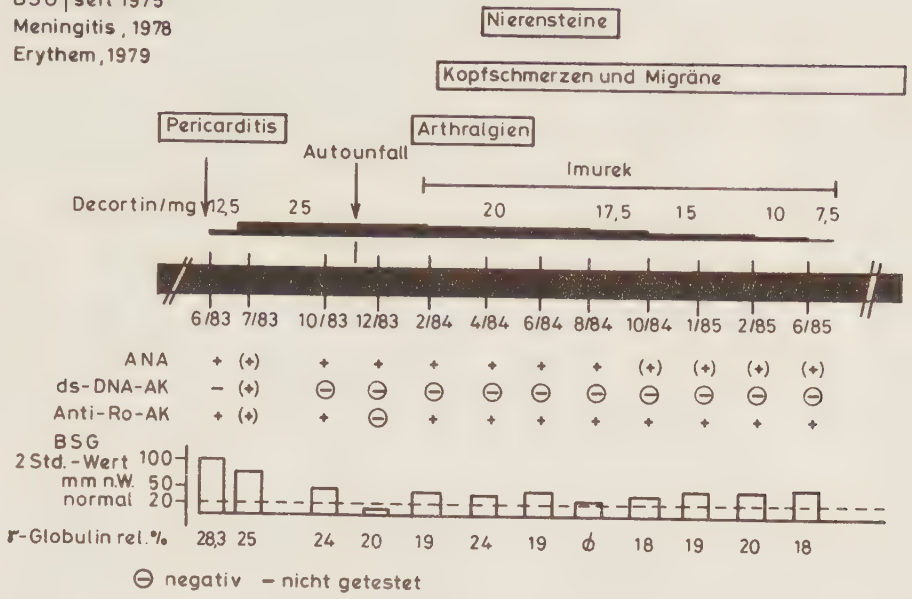


Abb. 21

12.2. Patientin A.H. (Abb.22)

Bei dieser Patientin (Jg.29)(Abb.22) begann die Erkrankung ähnlich wie bei der Patientin H.C. (Abb.21) zunächst mit einer BSG Erhöhung ohne jegliche klinische Symptomatik.

Die Laborwerte waren bis auf eine erhöhte Gamma-Globulin Fraktion, eine Leukopenie und die erhöhte BSG unauffällig. Der LE-Latex Test war negativ.

Nach fast zwei Jahren ohne größere Beschwerden stellten sich bei der Patientin eine Sicca-Symptomatik und eine Lymphadenopathie ein. Eine 1978 durchgeführte Sternalpunktion erbrachte eine IgG-Gammopathie mit dringendem Verdacht auf ein Plasmozytom. Ob es bei der Patientin bei einer Gammopathie bleiben würde, oder ob diese in ein Plasmozytom übergehen würde, mußte abgewartet werden. Weitere Kontrollen ergaben in den nächsten Jahren keinen Anhalt für ein Plasmozytom, es bestand jedoch weiterhin die polyklonale IgG Gammopathie.Seit 1979 kam eine rezidivierende Purpura hypergammaglobulinämica als Folge der verminderten Thrombozytenfunktion hinzu (14). Erhöhte Temperaturen und Arthralgien konnten seit 1981 nachgewiesen werden. Dann nach 8 Jahren Krankheitsverlauf kam es bei der Patientin zu einer sehr ausgeprägten Polyserositis mit Pleura und Pericarderguß.

Wenn man sich den Verlauf der Erkrankung dieser Patientin anschaut, merkt man, wie sich bei ihr die Anzahl der Symptome vermehrt. Man muß dazu sagen, daß dieser Fall insofern etwas ungewöhnlich ist, als hier der Verlauf einer Kollagenose ohne Therapie über 10 Jahre vorliegt. Die Patientin hat bis zum Ausbruch der Polyserositis die Therapie verweigert, da sie sich subjektiv nicht sonderlich beeinträchtigt fühlte. Es scheint als hätte sie

geahnt, daß die Kortikoidtherapie ihr nicht bekommen würde, denn nach nur 5 Monaten Therapie mit Decortin-H bekam sie eine sehr starke Osteoporose in der Wirbelsäule mit Gefahr der Kompressionsfraktur und Lähmungen. Die Decortin-Dosis wurde daraufhin reduziert bzw. zwischenzeitlich ganz abgesetzt. Danach verschlechterte sich die Krankheit sofort wieder.

Serologisch waren bei der Patientin erstmals 1979 ANA vom speckled-Typ in der IFL nachweisbar. Anti-ds-DNA AK waren intermittierend 1979, 1980 und 1984 nachweisbar. Äußerst interessant ist jedoch der Wandel der präzipitierenden Antikörper in der Immundiffusion. Während zunächst nur Anti-Ro AK nachweisbar waren, kam dann im Gefolge der Polyserositis auch noch Anti-Sm AK hinzu.

Es stellt sich natürlich die Frage was dieser Wandel der Antikörper zu bedeuten hat? War der Anti-Ro AK anfänglich der serologische Ausdruck einer Sicca-Symptomatik, und hat sich die Krankheit jetzt zu einem SLE (wobei der Nachweis von Anti-Sm fast pathognomonisch wäre) weiterentwickelt? Möglicherweise wäre es nie zu diesem Antikörperwandel gekommen, wenn sofort eine Therapie durchgeführt worden wäre. Die Schwierigkeit bei dieser Patientin besteht darin, das richtige Maß an Therapie zu finden. Limitierende Faktoren sind einerseits die Nebenwirkungen der Therapie (Osteoporose) und andererseits die Beeinträchtigungen von Seiten der Krankheit.

Verlauf einer Kollagenose über 10 Jahre mit Sicca-Symptomatik und der Wandel seiner präzipitierenden Antikörper

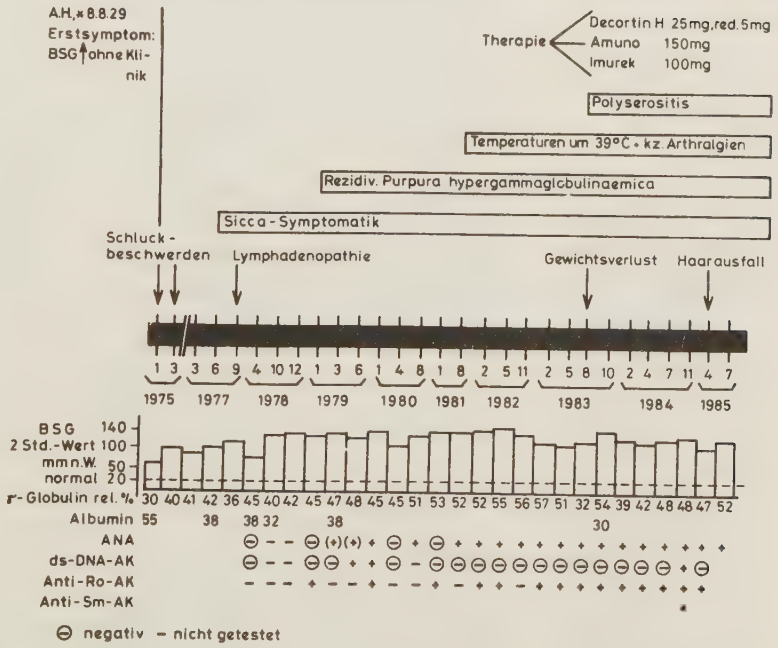


Abb. 22

Verlauf eines SLE mit Lungenfibrose bei Persistenz von Anti-Ro unter Therapie

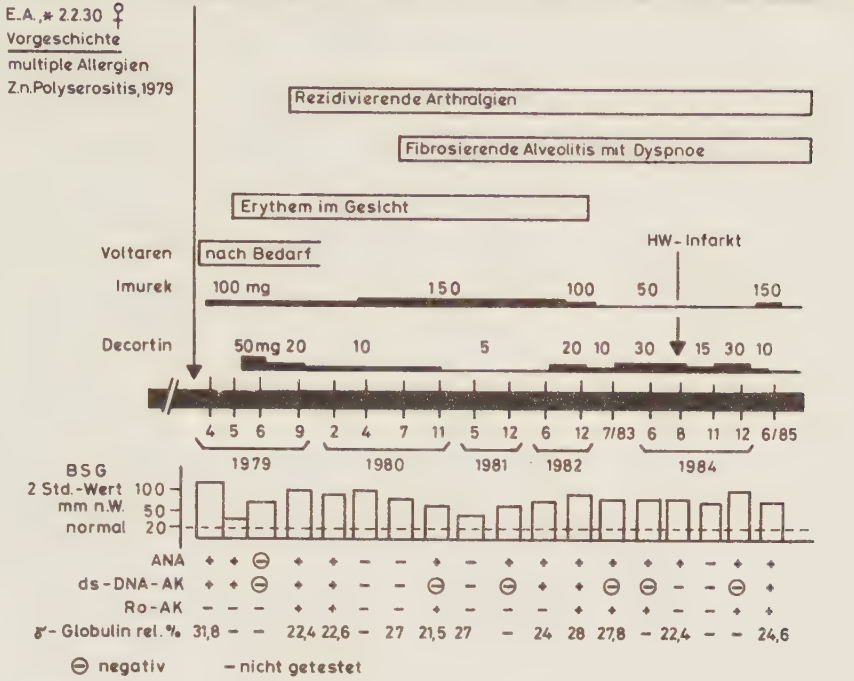


Abb. 23

12.3. Patientin E.A. (Abb.23)

Aus der Vorgeschichte der Patientin E.A.(Jg.30)(Abb.23) ist zu erwähnen, daß sie seit 1975 an Arthralgien leidet, und der SLE erst als er sich in Form einer Polyserositis darbot 1979 diagnostiziert wurde. Kurz darauf entwickelte sich ein Gesichtserythem, rezidivierende Arthralgien und schließlich 1980 eine fibrosierende Alveolitis.

Serologisch fand man bereits anfänglich ANA vom speckled-Typ in der IFL, die auch unter Therapie nicht verschwanden, genauso wenig wie die Anti-Ro Antikörper.

12.4. Zusammenfassung

An Hand dieser 3 Verläufe ist ersichtlich wie unterschiedlich die Symptome bei einem SLE sein können. Diese Patientinnen haben trotz einiger Unterschiede bezüglich des Verlaufs ihrer Erkrankung einiges gemeinsam. Alle haben sie Anti-Ro Antikörper, die unabhängig davon, ob therapiert wurde oder nicht, persistierten. Die oft beschriebene Verbindung von Anti-Ro und Sicca-Symptomatik kann nur bei der Patientin A.H.(Abb.22) festgestellt werden; bei den anderen zwei steht eher die viscerale Komponente im Vordergrund. Alle drei Patientinnen hatten während ihrer Krankheit Arthralgien und andere systemische Beteiligungen (Polyserositis, Pericarditis etc.). Bei den Patientinnen H.C. und E.A. waren die systemischen Beteiligungen am Anfang ihrer Erkrankung zu sehen, bei der Patientin A.H. erst im fortgeschrittenen Stadium.

Ebenfalls gemeinsam ist den Patientinnen die Erhöhung der BSG, die Gamma-Globulin Erhöhung und der positive Nachweis von ANA in der IFL.

D.DISKUSSION

1. Verbesserung der serologischen Diagnostik

Der Nachweis von Anti-Ro erfolgt heute üblicherweise noch in der Immundiffusion (ID)(4,5). Für diese Methode braucht man präzipitierende Antikörper und ein günstiges Verhältnis von Antigen und Antikörper, damit der Antigen-Antikörper Komplex als Präzipitationsbande sichtbar wird. Da dies nicht immer gewährleistet ist, entgehen sicherlich einige Seren mit niedrigem Anti-Ro Gehalt dem Nachweis.

Methoden wie der ELISA-Test, der mit Proteinkonzentrationen im µg Bereich arbeitet, kann eventuell ein Schritt zur früheren und sensitiveren Labordiagnostik auf der Suche nach Anti-Ro sein. Dies hat jedoch die Isolierung und Gewinnung von reinem Ro Antigen zur Vorraussetzung (69).

Verwendet man für den ELISA den herkömmlichen Milzextrakt (HSE), in dem viele Antigene enthalten sind, als Antigenquelle, so korrelieren die Ergebnisse der im ELISA gemessenen Extinktionen gut mit dem Nachweis von Präzipitationsbanden in der ID (67). Leider läßt sich aus der Höhe der Extinktion nichts über die Spezifität des Antikörpers sagen. Das heißt, Seren mit präzipitierenden Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-Ro/La und alleinigem Anti-Ro haben im ELISA hohe Extinktionen, im Vergleich zu Kontrollen ohne Präzipitationsbande. Man kann jedoch nicht sagen, daß bestimmte Extinktionsbereiche mit bestimmten spezifischen Antikörpern korrelieren. Bei Verwendung reiner Antigen könnte diese Methode sicherlich eine bessere Früherfassung und eine bessere Verlaufskontrolle gewährleisten.

2. Hypothesen über die Struktur des Ro(SS-A) Antigens

Durch Enzym- und Wärmebehandlung konnte Ro nicht in seiner Antigenität zerstört werden, obwohl Anzeichen dafür bestehen, daß es sich bei Ro(SS-A) um kleine RNA Partikel handelt, als Teil eines RNA-Protein Komplexes (54). Die genaue Struktur des Ro(SS-A) Antigens ist allerdings bisher noch nicht eindeutig geklärt.

Auch über den Aufenthaltsort von Ro innerhalb der Zelle können keine abschließenden Aussagen gemacht werden. Es gibt Anzeichen für einen cytoplasmatischen Ursprung des Antigens, genauso wie auch Beobachtungen gemacht wurden, wonach Ro(SS-A) nukleär ist. Eine Substanz gibt es, die als Wanderer zwischen Kern und Cytoplasma unterwegs ist; die messenger-RNA (m-RNA). Vielleicht sind Teile dieser m-RNA identisch mit Ro(SS-A). Allerdings wäre dann anzunehmen, daß die Aktivität von Ro durch RNAse zerstört werden mußte. Die üblicherweise verwendete RNAse spaltet jedoch nur neben Pyrimidinbasen. Angenommen die Ro(SS-A) Antigenstruktur liegt als Stück zwischen zwei Spaltstellen so kann die RNAse nicht angreifen; die Antigenität bleibt erhalten.

3. Aspekte der Autoimmunität

Das in der Routine übliche Screening bei Verdacht auf einen SLE beginnt mit dem Nachweis von ANA in der Immunfluoreszenz. Nun wissen wir, daß ein fehlender Nachweis von ANA den SLE nicht ausschließt (16), andererseits finden sich ANA auch bei gesunden Patienten mit veränderter Immuntoleranz und bei älteren Menschen. So beträgt die Häufigkeit von ANA unter 30Jahren 0-2%, zwischen 40 und 60Jahren 0-5% und über 60Jahren 5-20% (73). Man fragt sich warum die ANA im Alter zunehmen? Möglicherweise ist

jedem von uns eine gewisse Autoaggression impliziert, und unser Immunsystem ist das ganze Leben damit beschäftigt gegen den Selbstverfall anzukämpfen. Bei den meisten von uns funktioniert der Schutz ganz gut, jedoch kann jede Änderung unseres inneren Milieus, als Folge einer körperlichen, seelischen oder geistigen Streßsituation zum Verlust der Immuntoleranz führen. Eine Schlüsselrolle dabei spielt die mangelnde Funktion von T-Suppressor Zellen. Der Alterungsprozeß ist die Ausschöpfung der Regenerationsfähigkeit der Stammzellen. Da unser Immunsystem ebenfalls diesem Prozeß unterliegt, geht im Alter die Immuntoleranz und somit der Selbstschutz verloren. Der Zeitpunkt an dem die Immuntoleranz erlischt und die Autoimmunität ausbricht ist wiederum von Mensch zu Mensch unterschiedlich, und unter anderem abhängig von der genetischen Erbanlage. Meiner Meinung nach ist in jedem von uns die Bereitschaft zur Autoimmunität, genauso wie für die Karzinomentstehung vorhanden, mit dem Unterschied, daß einige von uns nicht als genug werden, daß sich die Erkrankung manifestieren kann.

4. Klinische Bedeutung von Anti-Ro

Anhand dieser Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Anti-Ro ein Antikörper ist, der nur bei Kollagenerkrankungen oder Erkrankungen mit kollagenoseähnlicher Symptomatik gefunden wird. Auch wenn die klinischen Symptome noch nicht eindeutig an eine Kollagenose denken lassen, so muß beim Nachweis von Anti-Ro verstärkt darauf geachtet werden. Über den Schweregrad und den Verlauf der Erkrankung kann man beim Nachweis von Anti-Ro keine einheitlichen Aussagen machen. Es gibt jedoch Anzeichen dafür, daß bei Patienten mit Anti-Ro die Erkrankung häufig nicht so dramatisch verläuft. Patienten, die nur eine organspezifische Autoimmunerkrankung haben zeigen keine Anti-Ro Antikörper.

Es finden sich aber einige Fälle, bei denen die organspezifische Autoimmunerkrankung und die Kollagenose nebeneinander oder nacheinander auftreten. Ich würde bei diesen Patienten eine verminderte Immuntoleranz als Ursache ansehen, die sich in diesen zwei Erkrankungen äußert. Die Antikörper, die dabei nachweisbar sind, sind aber gegen Antigene unterschiedlicher Natur gerichtet. Einerseits sind es ganz spezifische Teile eines einmalig angelegten Organs, das andere Mal handelt es sich um ubiquitär im Organismus vorkommende Zellorganellen.

Ebenso wie bei den organspezifischen Autoimmunerkrankungen verhält es sich bei den autoimmunen Lebererkrankungen. Patienten mit einer PBC haben dann Anti-Ro, wenn sie zusätzlich Symptome einer Kollagenose aufweisen. Am häufigsten findet sich die Sicca-Symptomatik mit der PBC assoziiert. Die Irritation des sekretorischen Systems der Leber durch Zerstörung der Gallengangsepithelien wird genauso beobachtet wie die Zerstörung der Speichel und Tränengangszellen bei der Sicca-Symptomatik. Man könnte sagen bei diesen Patienten bestehen zwei ähnlich aufgebaute Organe, die beide einem Autoaggressionsprozeß unterworfen sind.

Auch unter den Kollagenerkrankungen finden sich Anti-Ro AK in unterschiedlicher Häufigkeit. Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, muß ein gemeinsamer Nachweis von Anti-Ro und Anti-La in aller erster Linie an ein Sjögren Syndrom denken lassen. Nicht jedoch der alleinige Nachweis von Anti-Ro. Es scheint, als ob Anti-Ro alleine vorkommend vielmehr beim SLE und seinen Untergruppen wie dem SCLE vorkommt.

Ein großer Prozentsatz von Patienten mit nicht eindeutig geklärten Kollagenerkrankungen hatte ebenfalls Anti-Ro AK.

Dies legt den Verdacht nahe, daß Anti-Ro häufig als erster serologischer Befund auftritt, noch bevor die Diagnose an Hand der routinemäßigen Untersuchungen gestellt wird. In diese Gruppe fallen die symptomarmen und serologisch negativen LE, die somit nicht oder falsch diagnostiziert werden. Genauer betrachtet ist der Ausdruck sero-negativer SLE nicht ganz korrekt, denn das seronegativ bezieht sich auf die üblichen Untersuchungen mit den üblichen Labormethoden. Der Nachweis von Anti-Ro ist heute immer noch den Speziallaboratorien vorbehalten, und so lange von diesen der Nachweis von Anti-Ro nicht erbracht wird, gelten solche Seren als sero-negativ.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Ro ist ein Antigen, über dessen Struktur und Lokalisation innerhalb der Zelle kontroverse Meinungen bestehen. Ob es nun cytoplasmatischen oder nukleären Ursprungs ist, muß definitiv erst noch eruirt werden.

Die ersten Anti-Ro Antikörper fand man bei Patienten mit Kollagenerkrankungen(SLE und Sjögren-Syndrom), jedoch ist man sich über die klinische Relevanz von Anti-Ro noch nicht eindeutig im Klaren. Nachdem Anti-Ro auch bei einigen Patienten mit PBC gefunden wurden, stellte sich für die folgende Arbeit die Frage ob Anti-Ro auch bei anderen Autoimmunerkrankungen zu finden sei. Weiterhin interessierte es zu sehen bei welcher Erkrankung, falls überhaupt, Anti-Ro gehäuft vorkommt.

Seren von 142 Patienten mit organspezifischen Autoimmunerkrankungen, von 253 Patienten mit Kollagenosen, von 212 Patienten mit autoimmunen Lebererkrankungen und von 350 Normalpersonen wurden in der Immundiffusion auf Anti-Ro untersucht. Als Antigenquelle diente ein humaner Milzextrakt (HSE).

Durch Säulenchromatographische Trennungsverfahren wurde versucht Ro aus HSE zu isolieren, was jedoch mit dieser Methode nicht erreicht werden konnte. In der Charakterisierung von Ro wurde eine Wärme und Enzymbehandlung durchgeführt, wobei sich Ro als resistent gegen diese Behandlung erwies.

Den höchsten Anteil von Anti-Ro AK hatten mit 26% die Kollagenosen. Innerhalt dieses Kollektivs wiederum entfiel der größte Teil (85%) auf diejenigen Kollagenerkrankungen

die zur Zeit nicht eindeutig einer definierten Gruppe zugesprochen werden können, aber eindeutige Anzeichen einer beginnenden Kollagenose hatten.

Fanden sich Anti-Ro AK bei Patienten mit anderen Erkrankungen wie der PBC, so muß man sagen, daß diese Patienten zusätzlich zu ihrer Ersterkrankung noch Symptome einer Kollagenose hatten, und Anti-Ro als eine Art Frühmarker zu werten ist.

In einem Vergleich der Anti-Ro positiven Fälle bezüglich etwaiger Gemeinsamkeiten, klinischer, serologischer oder laborchemischer Art, fanden sich gehäuft Parameter, die für einen Lupus erythematodes typisch sind. Klinisch dominierten die Arthralgien, die Purpura und das Fieber. Die Sicca-Symptomatik war wider erwarten bei Patienten mit alleinigem Anti-Ro nicht so häufig zu finden, wie bei Patienten mit Anti-Ro und Anti-La Antikörpern.

Prognostische Aussagen beim Nachweis von Anti-Ro können nicht eindeutig gemacht werden. Es zeigt sich an Hand einiger Verläufe, daß bei Patienten mit Anti-Ro AK die Erkrankung sowohl von Anfang an dramatisch verlaufen kann, daß sie aber auch über eine lange Zeit in einem milden Stadium persistieren kann.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alarcón-Segovia,D.,Díaz-Jouanen,E.,Fishbein,E.: Features of Sjögren's syndrome in primary biliary cirrhosis. Ann.Intern.Med. 79,(1973) 31-36

2. Alarcón-Segovia,D.,Díaz-Jouanen,E.: Lupus subsets: Relationship to genetic and environmental factors. Seminars in Arthritis Rheum. 10,(1980) 18-24

3. Alexander,E.L.,Provost,T.T.: Ro(SS-A) and La(SS-B) antibodies. Springer Seminar,Immunpathologie (1981) 253-273

4. Alexander,E.L.,Arnett,F.C.,Provost,T.T.,Stevens,M.B.: Sjögren's syndrome: Association of anti-Ro(SS-A) antibodies with vasculitis, hematologic abnormalities, and serologic hyperreactivity. Ann. Intern.Med. 98,(1983) 155-159

5. Alspaugh,M.A.,Tan,E.M.: Antibodies to cellular antigens in Sjögren's syndrome. J.Clin.Invest. 55, (1975) 1067-1073

6. Alspaugh,M.A.,Talal,N.,Tan,E.M.: Differentation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome. Arthritis Rheum. 19,(1976) 216-222

7. Alspaugh,M.A.,Buchanan,W.W.,Whaley,K.: Precipitating antibodies to cellular antigens in Sjögren's syndrome, rheumatoid arthritis, and other organ and nonorgan-specific autoimmune diseases. Ann. Rheum.Dis. 37,(1978) 244-246

8. Alspaugh,M.A.,Maddison,P.: Resolution of the identity of certain antigen-antibody systems in systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome: An interlaboratory collaboration. Arthritis Rheum. 22, (1979) 796-798

9. Anderson,J.R.,Gray,K.,Beck,J.: Precipitating autoantibodies in Sjögren's disease. Lancet ii, (1961) 456-460

10. Ballou,S.P.,Kushner,I.: Lupus patients who lack detectable anti-DNA: clinical features and survival. Arthritis Rheum. 25,(1982) 1126-1129

11. Bardach,H.: ANF-negativer subakuter kutaner Lupus erythematosus mit Anti-Ro Antikörpern: Hautarzt 33, (1982) 537-541

12. Barnett,E.V.,North,A.F.,Condemi,J.J.: Antinuclear factors in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Ann.Inter.Med. 63, (1965) 100-108

13. Berg,P.A.: Diagnose der Kollagenkrankheiten:Klinische und immunologische Leitsymptome. Internist 25, (1984) 37-50

14. Berrebi,A.,Schattner,A.: Sjögren's syndrome with IgG kappa paraprotein and thrombocytopenia. Arthritis Rheum. 24, (1981) 1451-1452

15. Blomjous,F.J.E.M.,Feltkamp-Vroom,T.M.: Hidden antinuclear antibodies in sero-negative systemic lupus erythematosus patients and in NZB and (NZBXN2W) F_1 mice. Euro.J.Immu. 1, (1971) 396-398

16. Blumberg,B.S.,Bunim,J.J.,Calkins,E.,Pirani,C.L., Zvaifler,N.J.: Nomenclature and classification of arthritis and rheumatism(tentative) accepted by the American Rheumatism Association.Bull. Rheum. Dis. 14, (1964) 339-340

17. Bradford,M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. Anal.Biochem. 72,(1976) 248-254

18. Brent Ferrell,P.,Tan,E.M.: Epstein-Barr(EB) Virus antibodies in rheumatoid arthritis. Springer Sem.Immunpath. 4,(1981) 181-191

19. Callen,J.P.,Fowler,J.F.,Kulick,K.B.,Stelzer,G.,Smith, S.Z.: Neonatal lupus erythematosus occuring in one fraternal twin. Arthritis Rheum. 28,(1985) 271-275

20. Chellingsworth,M.,Scott,D.G.I.: Acute systemic lupus erythematosus with fatal pneumonitis and disseminated intravascular coagulation.Ann.Rheum. Dis. 44, (1985) 67-69

21. Christian,C.L.: Systemic lupus erythematosus, clinical manifestations and prognosis. Arthritis Rheum. 25, (1982) 887-888

22. Clark,G.,Reichlin,M.,Tomasi,T.B.JR.: Characterization of a soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. J.Immun. 102, (1969) 117-122

23. Cohen,A.S.,Reynolds,W.E.,Franklin,E.C.,Kulka,P.J., Ropes,M.W.,Shulman,L.E.,Wallace,S.E.: Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.Bull.Rheum.Dis.21,(1971) 643

24. Davis,P.,Percy,J.S.,Russel,A.S.: Correlation between levels of DNA antibodies and clinical disease activity in SLE. Ann.Rheum.Dis. 36,(1977)157-159

25. Decker,J.L.,and the Glossary subcommitee of the ARA committee on rheumatologic practice:American rheumatism association nomenclature and classification of arthritis and rheumatism.Arthritis Rheum. 26,(1983) 1029-1032

26. Dijkstra,P.F.: Classification and differential diagnosis of sialographie characteristics in Sjögren syndrome. Semin.Arthritis Rheum. 10, (1980) 10-17

27. Fellmann,B.,Grob,P.J.: Systemischer Lupus erythematosus- Klinik und Laboratorium.Schweiz.med.Wschr. 109,(1979) 1237-1250

28. Genth,E.: Klinische Bedeutung von Antikörpern gegen extrahierbare nukleäre Antigene.Med.Welt 33, (1982) 1583-1591

29. Gilliam,J.N.,Sontheimer,R.D.:Distinctive cutaneuos subsets in the spectrum of lupus erythematosus. J.Am.Acad.Dermatol. 4,(1981) 471-475

30. Harmon,C.E.,Deng,J.S.,Peebles,C.L.,Tan,E.M.: The importance of tissue substrate in the SS-A/Ro antigen-antibody system. Arthritis Rheum. 27, (1984) 166-173

31. Helmke,K.: Immunologische Differentialdiagnose der Kollagenosen. Immun.Infekt.Diagn. 9,(1981) 213-222

32. Koffler,D.,Biesecker,G.,Katz,S.M.: Immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 25,(1982) 858-861

33. Koffler,D.: Introduction to current perspectives on the immunology of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 25,(1982) vi-vii

34. Kulick,B.K.,Provost,T.T.,Reichlin,M.: Antibodies to single-stranded DNA in patients with discoid lupus erathematosus. Arthritis Rheum. 25,(1982) 639-646

35. Lightfoot,R.S.,Redecha,P.B.,Levesanos,N.:Longitudinal studies of anti-DNA antibody levels in SLE. Scand.J.Rheum.Supp.11,(1975) 52-58

36. Linder,E.,Miettinen,A.: Prozone effects in indirect immunofluorescence.Scand.J.Immuno.5,(1976)513-519

37. Mackay,I.R.,Ritts,R.E.: WHO handbook of immunological techniques. Geneva: World Health Organisation (1979)

38. Maddison,P.J.,Mogavero,H.,Provost,T.T.,Reichlin,M.: The clinical significance of autoantibodies to a soluble cytoplasmic antigen in systemic lupus erythematosus and other connective tissue disease. J.Rheum. 6,(1979)a 189-195

39. Maddison,P.J.,Reichlin,M.: Deposition of antibodies to a soluble cytoplasmic antigen in the kidneys of patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 22,(1979)b 858-863

40. Maerker-Alzer,G.,Mitrenga,D.,Dienst,C.,Schuhmacher,K.: Diagnostik von Autoimmunerkrankungen mit Hilfe von Laborparametern. Med.Welt 33,(1982)1366-1370

41. Manthorpe,R.,Frost-Larsen,K.,Isager,H.,Prause,J.U.: Sjögren's syndrome.Allergy 36,(1981) 139-153

42. Martinez-Lavin,M.,Vaughan,J.,Tan,E.M.: Autoantibodies and the spectrum of Sjögren's syndrome.Ann. Inter.Med. 91,(1979) 185-190

43. Mattioli,M.,Reichlin,M.: Heterogeneity of RNA protein antigens reactive with sera of patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 17,(1974) 421-429

44. Mills,P.W.,Sturrock,R.D.: Clinical associations between arthritis and liver disease.Ann.Rheum.Dis. 41,(1982) 295-307

45. Miyachi,K.,Gupta,R.C.,Dickson,E.R.,Tan,E.M.:Precipitating antibodies to mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis.Clin.Exp. Immunol. 39,(1980) 599-606

46. Moore,T.L.,Neucks,S.H.,Baldassare,A.R.,Zuckner,J.: Extractable nucklear antigens.Arthritis Rheum. 10,(1981) 309-318

47. Morley,K.D.,Hughes,G.R.V.:Systemic lupus erythematosus: causative factors and treatment.Pract.Therap. 23, (1982) 481-488

48. Müller,W.,Schilling,F.,Labhardt,F.,Wagenhäuser,F.: Differentialdiagnose rheumatischer Erkrankungen.1.Aufl.Aesopus-Verlag,München (1977)

49. Osial,T.A.,Whiteside,T.L.,Buckingham,R.B.,Singh,G., Barnes,E.L.,Pierce,J.M.,Rodnan,G.P.: Clinical and serologic study of Sjögren's syndrome in patients with progressive systemic sclerosis. Arthritis Rheum.26,(1983) 500-508

50. Penner,E.,Reichlin,M.:Primary biliary cirrhosis associated with Sjögren's syndrome:Evidence for circulating and tissue-deposited Ro/anti-Ro immune complexes.Arthritis Rheum.25,(1982) 1250-1253

51. Persellin,R.H.,Takeuchi,A.:Antinuclear antibody-negative systemic lupus erythematosus:loss in body fluids.J.Rheum.7,(1980) 547-550

52. Pincus,T.:Studies regarding a possible function for viruses in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum.25,(1982)847-856

53. Reichlin,M.,Mattioli,M.:Antigens and antibodies characteristic of systemic lupus erythematosus. Bull.Rheum.Dis.27,(1974) 756-760

54. Reichlin,M.:Current perspectives on serological reactions in SLE patients.Clin.Exp.Immun.44,(1981) 1-10

55. Reichlin,M.:Clinical and immunological significance of antibodies to Ro and La in systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum.25,(1982)767-772

56. Robbers,H.,Sauer,H.,Willms,B.:Praktische Diabetologie. 2.Aufl.Werk-Verlag Dr.Edmund Banaschewski, München-Gräfeling,(1981)

57. Sharp,G.C.,Irvin,W.S.,Tan,E.M.,Gordon Gould,R.,Holman, H.R.:Mixed connective tissue disease-an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen(ENA).Amer.J.Med.52,(1972) 148-159

58. Schur,P.H.,Sandson,J.:Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus.New Eng.J.Med. 278,(1968) 533-538

59. Scopelitis,E.,Biundo,J.J.JR.,Alspaugh,M.A.: Anti-SS-A antibody and other antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum. 23,(1980) 287-293

60. Scott,J.S.,Maddison,P.J.,Taylor,P.V.,Esscher,E.,Scott, O.,Skinner,R.P.:Connective-tissue disease,antibodies to ribonucleoprotein, and congenital heart block.New E.J.Med.309,(1983) 209-212

61. Sontheimer,R.D.,Thomas,J.R.,Gilliam,J.N.:Subacute cutaneous lupus erythematosus.A cutaneous marker for a distinct lupus erythematosus subset.Arch. Derm. 115,(1979) 1409-1415

62. Sontheimer,R.D.,Maddison,P.J.,Reichlin,M.,Jordan,R.E., Stastny,P.,Gilliam,J.N.:Serologic and HLA associations in subacute cutaneous lupus erythematosus,a clinical subset of lupus erythematosus. Ann.Inter.Med. 97,(1982) 664-671

63. Tan,E.M.,Christian,C.,Holman,H.R.,Homma,M.,Kunkel,H. G.,Reichlin,M.,Sharp,G.C.,Ziff,M.,Barnett,E.V.: Anti-tissue antibodies in rheumatic disease. Arthritis Rheum. 20,(1977) 1419-1420

64. Tan,E.M.,Cohen,A.S.,Fries,J.F.,Masi,A.T.,McShane,D.J., Rothfield,N.F.,Schaller,J.G.,Talal,N.,Winchester, R.J.:The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum. 25,(1982) 1271-1277

65. Tan,E.M.:Special antibodies for the study of systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum. 25,(1982) 753-756

66. Tan,E.M.:Autoantibodies to nuclear antigens(ANA):Their immunbiology and medicine.Adva.Immun. 33,(1982) 167-240

67. Vayhinger,S.: Unveröffentlichte Beobachtung (1983)

68. Venables,P.J.W.,Erhardt,C.C.,Maini,R.N.:Antibodies to extractable nuclear antigens in rheumatoid arthritis:relationship to vasculitis and circulating immune comlexes.Clin.Exp.Immun. 39,(1980)146-153

69. Venables,P.J.W.,Smith,P.R.,Maini,R.N.:Purification and characterization of the Sjögren's syndrome A and B antigens.Clin.Exp.Immun. 54,(1983) 731-738

70. Vetter,V.L.,Rashkind,W.J.:Congenital complete heart block and connective-tissue disease.New E.J. Med. 309,(1983) 236-237

71. Wilchester,R.J.,Nunez-Roldan,A.:Some genetic aspects of systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum. 25,(1982) 833-837

72. Williams,R.C.JR.:Cellular mechanism of tissue injury and immune derangement in systemic lupus erythematosus.Arthritis Rheum. 25,(1982) 810-812

73. Zeidler,H.:Pathologisch-klinisch-chemische Befunde und pathologische Immunphänomene.Therapiewoche 32, (1982) 803-827

Die vorliegende Arbeit entstand von Juli 1982 bis August 1985 an der von Prof.Dr.H.D.Waller geleiteten Abteilung II der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen unter der Anleitung von Herrn Prof.Dr.P.A.Berg.

Für die Anregungen, die Hilfe und den Rat, die das Gelingen der Arbeit erst möglich machten, sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Sachmittel möchte ich mich bei Herrn Prof.Berg sehr herzlich bedanken.

Herrn Dipl.Biochem. E.Stechemesser danke ich für seine Hilfe und Geduld bei der Einarbeitung in die Labormethoden.

Bei den anderen Mitarbeitern des Immunpathologischen Labors, und besonders bei Frau P.Wilhelm für Ihre Unterstützung bei serologischen Untersuchungen, sei an dieser Stelle recht herzlich gedankt.

Frau M.Dürnay danke ich für die sehr schönen Zeichnungen und die Photographien.

L e b e n s l a u f

Am 21.12.1957 wurde ich, Simone Vayhinger geb. Bartel, in Celje/Jugoslawien geboren. Im Jahre 1966 kam ich in die BRD, besuchte bis 1969 die Mörike Volksschule in Mühlacker, erwarb 1975 die Mittlere Reife und machte 1978 das Abitur im Reuchlin-Gymnasium in Pforzheim. Vom SS 1979 bis zum SS 1984 studierte ich in Tübingen Humanmedizin und absolvierte mein Praktisches Jahr im Paracelsuskrankenhaus in Ruit. Am 29.4.1985 legte ich den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab und erhielt am 3.5.1985 die Approbation. Seit dem 21.6.1985 bin ich mit Joachim Vayhinger verheiratet. Am 24.11.1985 wurde unser Leben durch die Geburt unserer Tochter Jennifer bereichert.

Druck Köhler Tübingen